



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS CINÉTICOS DE
UM COMPLEXO DE Fe(III)/Zn(II) DE UM NOVO LIGANTE
CONTENDO A UNIDADE FERROCENO ANCORADA**

SHEILA DE LUCCA MELLER

Florianópolis
novembro/2015

Sheila De Lucca Meller

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS CINÉTICOS DE UM
COMPLEXO DE Fe(III)/Zn(II) DE UM NOVO LIGANTE CONTENDO A
UNIDADE FERROCENO ANCORADA**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Orientador: Prof. Dr. Ademir Neves
Co-orientador: Msc. Marcos Paulo da Silva

Florianópolis
11/2015

Sheila De Lucca Meller

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS CINÉTICOS DE UM
COMPLEXO DE Fe(III)/Zn(II) DE UM NOVO LIGANTE CONTENDO A
UNIDADE FERROCENO ANCORADA**

Prof. Dr. Alexandre Luis Parize
Coordenador de Estágio do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Ademir Neves
Orientador

Prof. Adailton João Bortoluzzi

Prof^a Rosely Aparecida Peralta

Florianópolis
novembro/2015

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço minha mãe, meu pai e minha irmã Laura: sem vocês eu não seria nada e não estaria aqui. Obrigada pelo amor incondicional, pelo incentivo, pelo apoio e obrigada também por compreender os finais de semana que precisei ficar em Floripa para dar conta das coisas. Meu amor por vocês só cresce. Diego e Fabíola, maninhos, o orgulho que sinto em ser irmã de vocês e a admiração que sinto pelos dois não cabem em palavras. Obrigada por apoiarem, mesmo que de longe (infelizmente), essa irmãzinha de vocês! A todos os outros membros da minha família que torceram por mim, e que me acompanharam nessa jornada, meu muito obrigada!

Quero agradecer a todos os meus amigos que fiz nesses 4 anos na UFSC e aos meus colegas de graduação, que transformaram esses anos em Florianópolis muito mais agradáveis. Sem vocês com certeza tudo seria muito mais sem graça! Obrigada, de verdade! Agradeço também aos meus colegas queridos do Terceirão Murialdo 2011 que mesmo me chamando de louca por ter escolhido esse curso, sempre estiveram por perto presenciando minhas pequenas conquistas. Valeu, galera! Obrigada também a Letícia Scarduelli, que com seu jeito meio doidinho (hahaha) me ajudou nesse último semestre do curso, principalmente me alimentando corretamente! Valeu!

Meu agradecimento especial para todo o pessoal da LABINC, dos alunos aos professores, em especial a Renata Heying, a Cacau, e a Gra, e a todos os outros: vocês me acolheram em 2013 de uma maneira tão carinhosa que tiveram que me aturar mais dois anos (e quem sabe mais!). Obrigada pela ajuda, pelas risadas, pelas conversas, pelas delícias gastronômicas levadas para o lab... por tudo mesmo. Fico muito feliz de estar inclusa nesse grupo, de verdade. Valeu, gente!

Por todos os ensinamentos que recebi nesse período, agradeço imensamente aos meus professores, e também àqueles que de algum modo transmitiram seu conhecimento e me ensinaram grande parte do que sei hoje: se aprendi 50% do que me foi passado, já me sinto satisfeita. Minha admiração e meu muito obrigada a vocês!

Agradeço ao Profº Vanderlei G. Machado e a Rafaela Stock por terem me iniciado na área das pesquisas e da convivência em laboratório, ajudando-me no meu primeiro ano como aluna de iniciação científica. Obrigada pelo tempo e pela

paciência. Se eu continuei na pesquisa foi pela ótima experiência que tive com vocês. Agradeço também aos professores do LABINC, especialmente a Profª Rosely e o Profº Adailton, que nunca negaram ajuda quando precisei e sempre estavam lá quando necessário. Muito obrigada!

Aos amigos mais queridos que a química poderia ter me dado: Beatriz Comelli, Thiago Valdares e Marcos Paulo. A palavra obrigada perderia o sentido se eu tivesse que dizê-la todas as vezes necessárias para representar o quanto eu agradeço vocês! Sorrimos juntos, choramos juntos e continuaremos juntos! Bea, tudo contigo é mais legal! Obrigada por me mostrar a parte mais divertida dessa vida, e por fazer parte dela! Thi, mesmo com as tuas piadas NADA engraçadas (hahaha, sério.), eu agradeço de coração por sempre se dispor a me ajudar, em tudo! Marcos, seu fofo (sim!), o prêmio de melhor co-orientador vai pra você! Além de me aguentar no lab, nervosa com prova ou hiperativa te incomodando, ainda tinha a paciência de me ouvir a qualquer hora (até pela manhã!) e qualquer lugar, ajudando sempre! Milhões de "obrigadas" em papel reciclado pra você! ;) Aos três, meu mais sincero obrigada! <3

Ao pessoal do vôlei feminino EFC da UFSC, que deixaram minhas semanas muitos mais felizes e divertidas: sem esse tempo com vocês eu teria enlouquecido! Obrigada!!!

Meu agradecimento a Marina Pereira, que dividiu comigo as felicidades, noites de estudo e angústias pré-provas durante quase toda a graduação: o que seria da minha vida sem a sua pessoa ter me apresentado a dupla brigadeiro de panela + séries, hein? Obrigada, Marininha!!! Agradeço também aos meus queridos Leonam e Maria Paula, que estiveram SEMPRE comigo, desde o início, doando seu carinho, sua amizade e seu amor por essa pessoa que aqui escreve: obrigada pela amizade de vocês, por estarem do meu lado, hoje e pra sempre. Vocês são os amigos mais lindos que eu poderia ter!

Por fim, meu mais profundo agradecimento ao Profº Ademir Neves, por quem tive a sorte de ser orientada: sinto-me honrada de ter seu nome escrito como "Orientador" em meus trabalhos. Sua preocupação, seu interesse e seu apoio foram cruciais para a finalização dessa etapa da minha vida. Você é um exemplo de professor e de ser humano. Muito obrigada, professor.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	11
RESUMO.....	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Química inorgânica biológica	16
2.2 Enzimas.....	16
2.2.1 Metalohidrolases binucleares	17
2.3. Ferro e zinco: os metais de interesse.....	18
2.4 Ferroceno: o organometálico de interesse	19
3 OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo Geral.....	22
3.2 Objetivos específicos.....	22
4 METODOLOGIA	23
4.1 Materiais.....	23
4.2 Equipamentos e instrumentação	23
4.2.1 Espectrofotometria na região do Infravermelho (IV)	23
4.2.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	24
4.2.3 Espectrofotometria na região do Ultravioleta-visível (UV-Vis)	24
4.2.4 Eletroquímica	24
4.2.5 Condutimetria	24
4.2.6 Medidas de reatividade na hidrólise de ésteres de fosfatos	25
4.3 Síntese dos ligantes.....	26
4.3.1 Síntese dos pró-ligantes bis(piridilmetil)amina (bpma), 2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-formilfenol (bpmamff) e 2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-[N-(2piridilmetil)aminometil]fenol (HPy ₃).....	26
4.3.2 Síntese do ligante 2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-[N-(2hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2piridilmetil)aminometil]fenol - H ₂ py ₃ mff	26
4.3.3 Síntese do ligante N1-ferrocenilbutano-1,4-diamina - DAB-Fer.....	28

4.3.4 Síntese do ligante 2-[[bis(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-6-[[{(2-hidroxi-5-metil-3-[[4-[(ferrocen-1-ilmetil)amino]butil]amino)metil]fenil}metil)(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-4-metilfenol - LABF	30
4.4 Síntese do complexo heterobinuclear.....	33
4.4.1. Síntese do complexo perclorato de μ -hidroxo-2-[[bis(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-6-[[{(2-hidroxi-5-metil-3-[[4-[(ferrocen-1-ilmetil)amino]butil]amino)metil]fenil}metil)(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-4-metilfenol ferro(III) zinco(II) - CABF_FeZn.....	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Síntese dos ligantes.....	35
5.2 Síntese do complexo binuclear Fe(III)/Zn(II)	36
5.3 Caracterização dos compostos	37
5.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho - IV	37
5.3.2 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio - RMN ^1H	39
5.3.3 Condutimetria	40
5.3.4 Espectroscopia na região do ultravioleta visível - UV-Vis	40
5.3.5 Eletroquímica	43
5.3.6 Medidas de reatividade na hidrólise de fosfatos	45
6 CONCLUSÕES	51
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema do sítio ativo da espécie cataliticamente ativa da enzima Fosfatase Ácida Púrpura, PAP.....	18
Figura 2. Esquema da reação de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP com a metaloenzima na forma de catalisador.....	18
Figura 3. Estrutura desenvolvida por Biot <i>et al</i> ¹⁴ de um derivado do ferroceno com potencial contra a malária.	20
Figura 4. Esquema da síntese dos pró-ligantes, segundo descrito por Neves ²⁰ , Karsten ²¹ e Greatti ²² , e sintetizado segundo descrito por Heying. ⁹	26
Figura 5. Esquema da síntese do H ₂ py ₃ mff, segundo descrito por Piovezan <i>et al.</i> ²³	27
Figura 6. Espectro na região do IV em pastilha de KBr do composto H ₂ py ₃ mff.	27
Figura 7. Espectro de RMN ¹ H em 200 MHz e CDCl ₃ do composto H ₂ py ₃ mff.....	28
Figura 8. Esquema da síntese do ligante DAB-Fer.	28
Figura 9. Espectro na região do IV em filme sobre pastilha de KBr do composto DAB-Fer.	29
Figura 10. Espectro de RMN ¹ H em 200 MHz e CDCl ₃ do composto DAB-Fer.....	30
Figura 11. Esquema da síntese do ligante LABF.	30
Figura 12. Espectro na região do IV em filme sobre pastilha de KBr do ligante final LABF.	31
Figura 13. Espectro de RMN ¹ H em 200 MHz e CDCl ₃ do composto LABF.....	32
Figura 14. Esquema da síntese do complexo binuclear de Fe(III) e Zn(II) com o ligante LABF e sua provável estrutura, segundo proposto para compostos semelhantes. ²⁴	33
Figura 15. Espectro na região do IV em KBr do complexo binuclear CABF_FeZn. ...	34
Figura 16. Sobreposição dos espectros do ligante LABF (inferior, tracejado) e do complexo CABF_FeZn (superior, linha cheia), realizados sobre pastilha de KBr.	39

Figura 17. Espectros na região do UV-vis do ligante LABF com adições do agente oxidante nitrato de cério (IV) amoniacal. Condições: [LABF] _{cubeta} = 5×10^{-5} mol L ⁻¹ em CH ₂ Cl ₂ ; [(NH ₄) ₂ Ce(NO ₃) ₆] = $1,81 \times 10^{-5}$ a $1,66 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ em CH ₃ CN.....	41
Figura 18. Espectro na região do UV-Vis em CH ₃ CN, do CABF_FeZn em diferentes concentrações.	42
Figura 19. Voltamogramas cíclicos dos compostos LABF, ferrocenocarboxialdeído e ferrocenocarboxiálcool em CH ₂ Cl ₂ na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito suporte.....	43
Figura 20. Voltamogramas cíclicos do composto CABF_FeZn, em CH ₂ Cl ₂ na presença de TBAPF ₆ 0,1 mol.L ⁻¹ como eletrólito suporte.....	44
Figura 21. Dependência da velocidade inicial do complexo CABF_FeZn com o pH para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP. Condições: CH ₃ CN/H ₂ O (50:50, %v/v); [Complexo] = 4×10^{-5} mol L ⁻¹ ; [Substrato] = $2,5 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ ; [tampão] = 5×10^{-2} mol L ⁻¹ ; I = 5×10^{-2} LiClO ₄ mol L ⁻¹	46
Figura 22. Estruturas de compostos da presentes na literatura: 1- FeZnH ₂ LHex ⁹ ; 2- FeZnLP1 ²⁴ ; 3 - FeZnLald ²³	47
Figura 23. Dependência da velocidade de reação do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o CABF_FeZn. Condições: CH ₃ CN/H ₂ O (50:50, %v/v); [Complexo] = 4×10^{-5} mol L ⁻¹ ; [tampão] = 5×10^{-2} mol L ⁻¹ ; I = 5×10^{-2} LiClO ₄ mol L ⁻¹	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais bandas observadas no espectro na região do infravermelho dos ligantes HPy ₃ ¹⁹ , H ₂ py ₃ mff, DAB-Fer e LABF, em número de onda (cm ⁻¹).	38
Tabela 2. Principais bandas observadas no espectro na região do infravermelho do ligante LABF e do complexo CABF_FeZn, em número de onda (cm ⁻¹).	39
Tabela 3. Valor do pKa cinético obtido para o CABF_FeZn, e para compostos de estrutura semelhante presentes na literatura.	47
Tabela 4. Valor dos parâmetros cinéticos obtidos para o CABF_FeZn, e para compostos de estrutura semelhante presentes na literatura.	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2,4-BDNPP	Bis(2,4-dinitrofenil)fosfato
bpma	Bis(piridilmetil)amina.
bpmamff	2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-formilfenol
CABF_FeZn	Perclorato de μ -hidroxi-2-[[bis(piridin-2-ilmetil) amino]metil] -6-[[{2-hidroxi-5-metil-3-[[{4-[(ferrocen-1-ilmetil) amino]butil}amino)metil]fenil}metil](piridin-2-ilmetil)amino]metil]-4-metilfenol ferro(III) zinco(II).
CHES	Ácido N-ciclohexil-2-aminoetanosulfônico
cmff	2-clorometil-4-metil-6-formilfenol
DAB-Fer	N ¹ -ferrocenilbutano-1,4-diamina.
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por eletrospray
Et₃N	Trietilamina
Fc/Fc⁺	Ferroceno/Ferrocínio
Fc-CHO	Ferrocenocarboxialdeído
Fc-OH	Ferrocenocarboxiálcool.
H₂py₃mff	2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-[N-(2hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2piridilmetil)aminometil]fenol
HEPES	Ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanosulfônico
HPy₃	2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-[N-(2piridilmetil)aminometil]fenol
IV	Infravermelho
LABF	2-[[bis(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-6-[[{2-hidroxi-5-metil3-[[{4-[(ferrocen-1-ilmetil)amino]butil}amino)metil]fenil}metil](piridin2ilmetil)amino]metil]-4-metilfenol.
MES	Ácido 2-(N-morfolino)etanossulfônico
NHE	Eletrodo normal de hidrogênio
PAP	Fosfatase ácida púrpura
pH	Potencial Hidrogeniônico.

ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância magnética nuclear
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
UV-Vis	Ultravioleta-visível

RESUMO

Dentre os muitos estudos que abrangem a Química Inorgânica, há um ramo que vem se destacando: a Química Bioinorgânica. Nesse contexto, as pesquisas da influência da segunda esfera de coordenação, principalmente na eficiência catalítica de sistemas biológicos, tem sido um importante tema de estudos nessa área em grande expansão. A fim de se obter compostos com atividade catalítica frente a sistemas biológicos, foi realizada a síntese de um novo complexo binuclear de valência mista, a partir de um novo ligante contendo uma unidade 1,4-diamino-ferroceno ancorada, buscando-se um composto com potencial para catálise de reações de hidrólise com o substrato modelo do DNA, 2,4-BDNPP. Após a síntese dos pró-ligantes, baseado em rotas sintéticas já utilizadas dentro do grupo de pesquisa, o ligante LABF foi sintetizado, caracterizado e então utilizado na síntese de um novo complexo de Fe(III)/Zn(II). O complexo foi caracterizado por diversas técnicas e sua atividade de hidrolase testada frente ao substrato modelo 2,4-BDNPP. Os resultados dos testes cinéticos foram comparados com outros compostos modelo semelhantes, mostrando como resultado da adição da unidade 1,4-diamino-ferroceno o aumento da eficiência catalítica desse novo composto.

Palavras chaves: segunda esfera de coordenação, bioinorgânica, hidrólise, ferroceno, DNA.

1 INTRODUÇÃO

Dentre as áreas de estudo da ciência, a Química está em pleno desenvolvimento desde o início dos tempos. Desde a alquimia e as propostas de Aristóteles sobre os quatro elementos básicos, até a atualidade, com a nanotecnologia e as pesquisas em química nuclear, a constante é a mesma: a química continua em ascensão.

Uma dessas áreas em constante desenvolvimento, que vêm atraindo muitos pesquisadores, é a Química Bioinorgânica, que estuda as atividades biológicas do ponto de vista químico. Essa área tem como um dos focos o estudo da atuação dos metais em meio biológico. Como exemplo, pode-se citar o uso de complexos metálicos, chamados de compostos biomiméticos, onde esses metais estão ligados covalentemente a moléculas orgânicas, conhecidas como ligantes. Esses complexos poderão então atuar de maneira similar às enzimas, sendo utilizados para diferentes finalidades, dependendo de suas propriedades. Além disso, algumas interações externas, que não estão relacionadas diretamente com as ligações de coordenação, podem também ser relevantes, as chamadas interações da segunda esfera de coordenação. Estas interações podem ser realizadas por cadeias e/ou unidades laterais que venham a contribuir favoravelmente para o sistema.

Para se obter esses compostos biomiméticos, e avaliar os possíveis efeitos da segunda esfera de coordenação, são realizados estudos e testes de rotas sintéticas, que por fim resultam no composto de coordenação idealizado. Após diversas caracterizações, incluindo análises espectroscópicas e eletroquímicas, o composto biomimético é então testado cineticamente frente a substratos modelo, mostrando seus potenciais catalíticos para determinadas reações. Se os estudos cinéticos se mostrarem favoráveis, serão então realizados testes biológicos para confirmar a atividade efetiva desses compostos frente a outros tipos de substratos, como por exemplo, no uso de DNA, em reações de hidrólise ou oxidação.

Visando o estudo da interação dos compostos com o DNA para o possível aumento da atividade de catálise, por meio da síntese de um novo ligante e de um novo complexo metálico, propõe-se o presente trabalho, que busca abranger as grandes áreas da química como um todo: a química orgânica, na síntese de ligantes; a química analítica e físico-química nas caracterizações dos compostos; e a química inorgânica, na síntese e caracterização dos complexos metálicos; ajudando a

entender que a química, uma ciência tão diversificada, pode ser utilizada em conjunto com outras áreas, mostrando a interdisciplinaridade da ciência no ramo das pesquisas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Para descrever o estudo de complexos inorgânicos como compostos biomiméticos se faz necessário um pequeno apanhado de informações, uma vez que desde as sínteses até as possíveis aplicações biológicas, o desenvolvimento do projeto abrange vários aspectos importantes da química. Passando por definições bioinorgânicas, propriedades de alguns metais e suas aplicações, uma breve revisão bibliográfica é apresentada na sequência, a fim de elucidar melhor toda a química envolvida no trabalho.

2.1 Química inorgânica biológica

Também chamada de química bioinorgânica, a química inorgânica biológica corresponde ao estudo dos íons metálicos no sistema biológico, tendo como um de seus focos as interações, estruturais ou dinâmicas, destes íons com ligantes biológicos, e nas suas propriedades químicas conferidas a um organismo vivo.¹ É uma ciência relativamente recente que vem atraindo pesquisadores de diferentes áreas, como médicos, toxicologistas e bioquímicos, que aparentemente não estão relacionados entre si, o que já demonstra a interdisciplinaridade desta área.²

Posicionada entre a química e as ciências biológicas, a química bioinorgânica contempla um variado número de tópicos que vão além do estudo da ocorrência de íons metálicos em sistemas biológicos, mas também ao uso de íons metálicos como possíveis fármacos e ainda a utilização destes metais em compostos modelo para a compreensão de sistemas biológicos.³

2.2 Enzimas

Em sistemas vivos, a maioria das reações bioquímicas dá-se em vias metabólicas, que são sequências de reações em que o produto de uma reação é utilizado como reagente na reação seguinte. Para acelerar esses processos biológicos, a atuação de algumas enzimas é fundamental. Enzimas são proteínas catalisadoras que facilitam a conversão de substratos a produtos.⁴ São biocatalisadores altamente especializados em relação às reações que catalisam.⁵ Um exemplo são as metaloenzimas, que podem ser definidas como biopolímeros constituídos de aminoácidos, unidos por ligações peptídicas, organizados de

maneira a formarem uma estrutura tridimensional (sítio ativo) que possuam um ou mais íons metálicos.⁶

Inicialmente as enzimas recebiam nomes arbitrários, como por exemplo, a primeira enzima descoberta, em 1833, que recebeu o nome "diastase" (hoje chamada amilase). Com o número crescente de enzimas descobertas houve a necessidade de categorizar as mesmas, o que levou à criação de um sistema de divisão de diferentes tipos de enzimas. Assim, a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB) começou a classificar as enzimas de acordo com as reações que elas catalisavam. Dentro das seis classes criadas, destaca-se a das hidrolases, que são enzimas que catalisam reações de hidrólise, e dentro dessa classificação pode-se citar as metalohidrolases binucleares, que são o foco deste trabalho.³

2.2.1 Metalohidrolases binucleares

As metalohidrolases binucleares são compostas por um grupo diverso de enzimas que possuem sítios ativos binucleares para catalisar a hidrólise de amidas, ésteres de fosfato ou ácidos carboxílicos. Muitas dessas enzimas estão sendo estudadas como fármacos contra uma gama de problemas de saúde, como osteoporose, câncer e depressão, e também como compostos degradadores de pesticidas e organofosforados.⁷

Um exemplo dessas metalohidrolases são as fosfatases ácidas púrpuras (PAPs) (Figura 1). As PAPs representam monoesterases binucleares, que são estruturalmente diferentes, mas que conservam o centro binuclear de Fe^{+3} e M^{+2} (sendo $\text{M} = \text{Fe}, \text{Zn}$ ou Mn), devido ao fato de que esse tipo de enzima precisa do sítio ativo heterobivalente para a catálise ser estabilizada. As PAPs têm como características sua cor púrpura intensa na sua forma inativa, resultante de uma transferência de carga Tirosina- Fe(III) , e por catalisar as hidrólises de éster de fosfato em pH ótimo entre 4 e 7. Além disso, seu papel no metabolismo celular inclui reabsorção óssea, transporte de ferro e geração de espécies reativas de O_2 .^{7, 8}

Uma possibilidade de avaliar o potencial catalítico dessas metalohidrolases no ambiente laboratorial é através da ação dessas metaloenzimas na reação de hidrólise do substrato modelo bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP) (Figura 2),

que se assemelha à estrutura do DNA, uma vez que essa molécula simula as ligações de ésteres de fosfato presentes na estrutura do mesmo.⁹

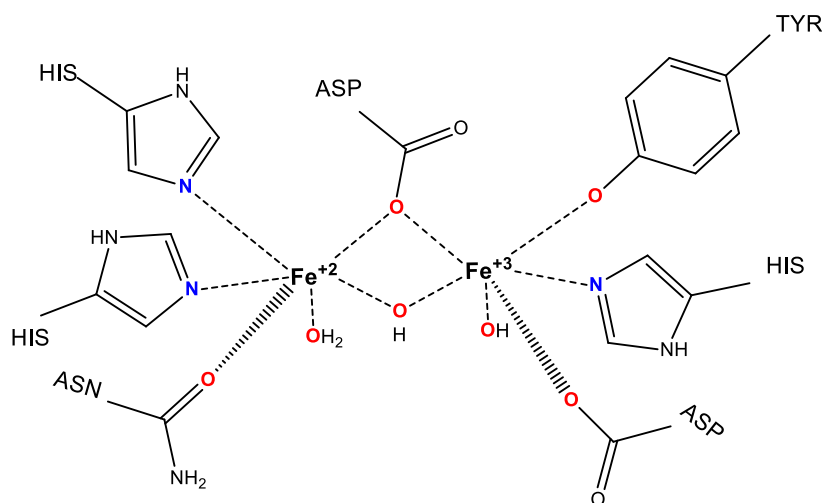


Figura 1. Esquema do sítio ativo da espécie cataliticamente ativa da enzima Fosfatase Ácida Púrpura, PAP.

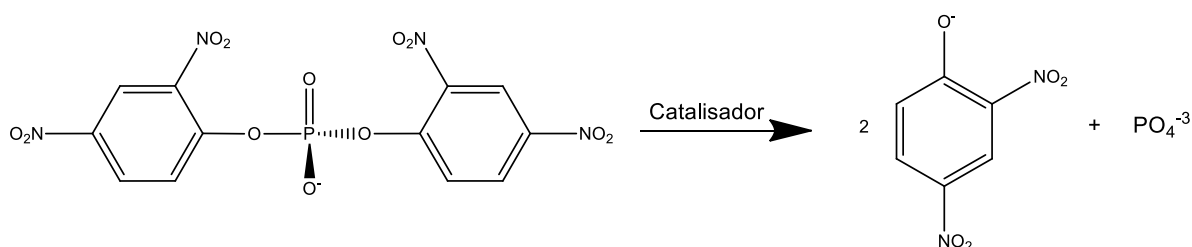


Figura 2. Esquema da reação de hidrólise do substrato 2,4-BDNPP com a metaloenzima na forma de catalisador.

2.3. Ferro e zinco: os metais de interesse

Dentro do âmbito bioinorgânico, o estudo dos íons metálicos é de extrema importância. Desse modo, a escolha dos metais a serem usados nas sínteses inorgânicas também é fundamental. Dentre os muitos metais presentes no meio biológico de maneira natural, os mais abundantes são o ferro e o zinco, mostrando quão essenciais ambos são para o bom funcionamento de um organismo.²

O ferro, um metal essencial à maioria dos organismos, tem três estados de oxidação em relevância: Fe(II), Fe(III) e Fe(IV). Moléculas cujos sítios-ativos são feitos de ferro têm um potencial catalítico para inúmeras e variadas reações, como transferência de elétrons, reações ácido-base envolvendo ligação reversível de O₂, reações de desidratação/hidratação e também hidrólises de ésteres. A absorção, distribuição e armazenamento desse metal são facilitadas por sistemas de

transportes sofisticados, utilizando por exemplo a proteína ferritina, responsável pelo armazenamento do mesmo.¹

O zinco é um metal conhecido pela sua falta de química de oxirredução, já que apresenta camada d completa (d^{10}). Está presente como metal formador de estrutura de enzimas e proteínas que se ligam ao DNA e é considerado um bom ácido de Lewis. Esse metal forma complexos estáveis com ligantes N e S doadores, sendo encontrado em complexos que catalisam reações de hidrólise de ésteres e peptídeos.¹

Pensando-se nesses dois metais atuando no sítio ativo de uma enzima como a PAP, os íons Fe(III) e o Zn(II) têm, além do papel estrutural, uma importância fundamental na catálise da hidrólise. De acordo com Klabunde *et al*¹⁰, que descreveu um mecanismo para a PAP na hidrólise de ésteres de fosfato, o metal bivalente Zn(II) é primordial para a ligação do sítio ativo com o éster a ser hidrolisado, enquanto o Fe(III) gera *in situ* o nucleófilo que hidrolisa de fato o substrato, atuando em conjunto para a catálise efetiva dessa reação. Desse modo, tanto ferro como zinco apresentam importância na catálise de reações de hidrólises de ésteres, sendo de grande importância para a síntese de compostos de coordenação que visam o estudo deste tipo de reação catalítica.^{1, 2}

2.4 Ferroceno: o organometálico de interesse

O ferroceno é uma substância organometálica do tipo sanduíche e foi sintetizado, acidentalmente, por Pauson e Kealy em 1951. O grupamento ferroceno exibe interessantes propriedades químicas e ao ser inserido em estruturas orgânicas pode produzir derivados com importantes aplicações em diversas áreas, como medicina, bioquímica e toxicologia, e além disso, apresenta baixo custo. O ferroceno apresenta propriedades de oxirredução, ocorrendo a geração de espécie cátion-radical. O ferroceno obedece a regra dos 18 elétrons e, desse total, 12 elétrons encontram-se em orbitais ligantes e os outros 6 em orbitais não ligantes. Os elétrons não ligantes determinam propriedades importantes do ferroceno como seu potencial redox, além de outras propriedades químicas.^{11, 12}

Entre as aplicações medicinais do ferroceno, pode-se citar as inúmeras pesquisas *in vitro* e *in vivo* contra inúmeras doenças, incluindo infecções bacterianas, HIV, malária e câncer.¹³ Um exemplo da aplicação de moléculas derivadas do ferroceno na medicina é a molécula desenvolvida por Biot *et al* (Figura

3), que mostrou alta atividade contra a malária, em testes *in vitro* com o protozoário parasita *Plasmodium falciparum*.¹⁴

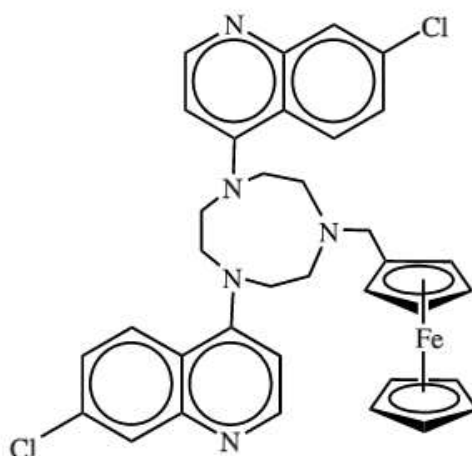


Figura 3. Estrutura desenvolvida por Biot *et al*¹⁴ de um derivado do ferroceno com potencial contra a malária.

O ferroceno apresenta também propriedades de marcador eletroquímico, pois é um grupo informativo devido a sua estabilidade em operações redox, sofrendo processos de oxidação e redução bem característicos, sendo facilmente detectados nesse tipo de técnica, sendo usado também como padrão em algumas análises eletroquímicas.¹³

Por ser uma molécula organometálica e de interessantes propriedades, o ferroceno pode exercer algum tipo de interação, quando ancorado a um complexo biomimético, na chamada segunda esfera de coordenação. Os efeitos da segunda esfera de coordenação, que corresponde aos efeitos causados pela parte da molécula que não está diretamente ligada ao centro metálico, são bastante variáveis. Esses efeitos podem ser provocando uma melhor afinidade ao substrato estudado ou estabilizando o estado de transição, por meio de possíveis interações intermoleculares como: ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas, efeitos hidrofóbicos e forças de van der Waals.¹⁵

Mesmo com sua grande gama de propriedades químicas e biológicas, o ferroceno inserido em compostos de caráter catalítico foi pouco estudado. Esse organometálico pode ser utilizado como agente intercalante em compostos biomiméticos, buscando efeitos de segunda esfera de coordenação. O uso desse composto nessas estruturas bioinorgânicas busca os estudos dos efeitos desse

organometálico nos sistemas estudados, algo ainda não desenvolvido, podendo ajudar na elucidação do papel (estrutural e/ou funcional) dessa estrutura nas reações de catálise biomimética.

Com estas justificativas, este trabalho visa a síntese e caracterização de um ligante heterobinucleante com uma unidade ferroceno, e por consequência, a síntese e a caracterização do seu respectivo complexo de Fe^{+3} e Zn^{2+} , e que através de possíveis interações de segunda esfera de coordenação, busca potencializar a atividade catalítica do sistema frente à hidrólise do substrato modelo 2,4-BDNPP e também possivelmente frente à quebra hidrolítica do DNA.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Sintetizar, purificar e caracterizar um novo ligante com ferroceno ancorado e um novo complexo binuclear heterovalente Fe/Zn com possível potencial catalítico.

3.2 Objetivos específicos

- Sintetizar, purificar e caracterizar por RMN ^1H , IV, UV-vis e eletroquímica um novo ligante orgânico com uma unidade ferroceno;
- Sintetizar, purificar e caracterizar por IV, condutimetria, UV-Vis e eletroquímica um novo complexo binuclear Fe(III)/Zn(II);
- Testar cataliticamente o complexo sintetizado frente à reação com o substrato modelo hidrolítico 2,4-BDNPP;
- Avaliar a atividade catalítica obtida para o complexo estudado, baseando-se em resultados de compostos semelhantes dentro do grupo de pesquisa.

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

Os seguintes reagentes, materiais, gases e solventes foram empregados nas sínteses e análises, adquiridos de fontes comerciais e sendo assim utilizados sem purificação prévia: hidróxido de sódio, ácido clorídrico 37 %, sulfato de sódio anidro, hidróxido de potássio, ferrocenocarboxialdeído, bicarbonato de sódio, boro-hidreto de sódio, brometo de potássio grau espectroscópico, cloreto de potássio, tampões biológicos MES, HEPES, CHES, perclorato de lítio, catalisador paládio/carbono 5%, sílica gel azul, perclorato de ferro (III) nona-hidratado, perclorato de zinco (II) hexa-hidratado, argônio 5.0, nitrogênio 2.0, nitrato de cério (IV) amoniacal, clorofórmio deuterado, ácido acético glacial, clorofórmio PA, acetonitrila PA, diclorometano PA, isopropanol PA, metanol PA, etanol absoluto, éter etílico PA, acetona PA, tetrahidrofurano PA, acetonitrila e diclorometano de grau espectroscópico.

Alguns reagentes foram purificados antes de utilizados, sendo eles: piridina e 2-piridilcarboxialdeído (destilado à pressão reduzida), POCl_3 (destilado em coluna microcapilar), 2-(aminometil)piridina (destilada à pressão reduzida), 1,4-diaminobutano (destilada à pressão reduzida), trietilamina (destilada à pressão reduzida), 2,4-dinitrofenol (recristalizado em clorofórmio). O composto bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP) a ser utilizado, foi sintetizado, purificado e caracterizado de acordo com procedimento descrito na literatura.¹⁶

4.2 Equipamentos e instrumentação

Algumas análises padrão para caracterização dos ligantes e complexos sintetizados foram realizadas, buscando-se corroborar a pureza com as estruturas almejadas. Para tal, algumas técnicas foram utilizadas, bem como o uso de alguns equipamentos, descritos na sequência.

4.2.1 Espectrofotometria na região do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do IV foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin-Elmer FT-IR Spectrofotometer Spectrum 100, na região de 4000 a 400 cm^{-1} no Laboratório de Química Bioinorgânica e Cristalografia, no Departamento de Química da UFSC. As amostras sólidas foram analisadas misturando-se uma pequena amostra do composto junto ao KBr, sendo macerado e compactado na forma de pastilhas, e as

amostras na forma de óleos foram analisadas na forma de filme sobre a pastilha de KBr, solubilizando-se as amostras em diclorometano e deixando-se secar, para ser realizada a análise.

4.2.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de ^1H foram obtidos em um aparelho Bruker AC 200, na Central de Análises do Departamento de Química – UFSC, em 200 MHz. Os deslocamentos químicos de hidrogênio foram registrados em ppm utilizando como referência interna tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,00$ ppm) e CDCl_3 como solvente.

4.2.3 Espectrofotometria na região do Ultravioleta-visível (UV-Vis)

Os espectros eletrônicos da região do UV-vis foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Lambda 750 no Laboratório de Química Bioinorgânica e Cristalografia, no Departamento de Química da UFSC. As análises foram realizadas utilizando-se soluções do solvente com grau espectroscópico e cubetas de quartzo, com capacidade para 1,5 mL e 1 cm de caminho óptico.

4.2.4 Eletroquímica

Os comportamentos redox do ligante e do complexo foram investigados por voltametria cíclica em um potenciostato-galvanostato BAS (Bioanalytical Systems, Inc.) modelo Epsilon, no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia, Departamento de Química – UFSC. Nos experimentos realizados para os compostos foram utilizadas soluções de diclorometano de grau espectroscópico sob atmosfera de argônio com hexafluorofosfato de tetrabutilamônio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) como eletrólito suporte. A cela eletroquímica foi montada tendo como composição três eletrodos: eletrodo de trabalho – carbono vítreo; eletrodo auxiliar – fio de platina; eletrodo de referência – Ag/Ag^+ . Para correção do eletrodo de referência utilizou-se o ferroceno ($E_{1/2}$ vs NHE = +400 mV; $E_{1/2}$ vs Ag/Ag^+ = +245 mV) como padrão interno.

4.2.5 Condutimetria

A medida condutimétrica do complexo foi realizada no aparelho Metrohm 856, do Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia – UFSC. O aparelho foi calibrado com uma solução padrão de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ cuja condutividade é de $100 \mu\text{S cm}^{-1}$ em água a 25°C e a solução do complexo CABF_FeZn foi medida em acetonitrila e os valores ajustados segundo Geary *et al.*¹⁷

4.2.6 Medidas de reatividade na hidrólise de ésteres de fosfatos

A atividade catalítica do complexo foi avaliada através da reação de hidrólise do substrato bis-(2,4-dinitrofenil)fosfato (2,4-BDNPP), o qual é sintetizado de acordo com o método descrito por Bunton e Farber (1969).¹⁶ Os experimentos cinéticos foram realizados no Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia – UFSC, sob condições de excesso de substrato monitorando-se espectrofotometricamente, em um espectrofotômetro UV-vis Varian Cary 50 BIO acoplado a um banho termostaticado, a variação de absorbância ocorrida em 400 nm, referente a liberação do ânion 2,4-dinitrofenolato, como produto da reação de hidrólise.¹⁸

Foram realizados estudos primeiramente variando-se o pH, a fim de se encontrar a melhor condição para a reação, e posteriormente, no pH ótimo, variando-se a concentração de substrato no meio. Os estudos em função do pH para atividade de hidrólise foram realizados em uma faixa de pH entre 4,0 e 9,0 a 25 °C. Utilizaram-se cubetas de vidro com capacidade para 4,0 mL e caminho óptico de 1 cm, nas quais foram adicionados 1500 µL de solução aquosa de tampão 0,1 mol L⁻¹ MES (pH 4,0 a 6,5), HEPES (pH 7,0 a 8,0) e CHES (9,0) com força iônica mantida constante ($I = 5 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹, LiClO₄), 100 µL de uma solução em acetonitrila do complexo ($[C]_{\text{final}} = 4 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹), 900 µL de acetonitrila e 500 µL de uma solução em acetonitrila do substrato ($[S]_{\text{final}} = 2,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹). Os experimentos cinéticos em condições de excesso de substrato, para determinação dos parâmetros de ativação, foram realizados nas mesmas condições, porém alterando o volume de acetonitrila e de solução de substrato mantendo a proporção CH₃CN/H₂O (50:50, %v/v), para que a concentração de substrato variasse de 3×10^{-3} mol L⁻¹ a 3×10^{-4} mol L⁻¹. Correções de hidrólise espontânea do substrato 2,4-BDNPP foram realizadas sob condições idênticas, porém sem a adição dos 100 µL do complexo, aumentando esse volume em acetonitrila.

Os dados foram tratados pelo método das velocidades iniciais, baseando-se no tratamento de dados de complexos analisados de maneira semelhante dentro do grupo de pesquisa.

4.3 Síntese dos ligantes

4.3.1 Síntese dos pró-ligantes bis(piridilmetil)amina (bpma), 2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-formilfenol (bpmamff) e 2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-[N-(2piridilmetil)aminometil]fenol (HPy₃).

O ligante final LABF requer uma rota sintética composta de várias etapas, e entre elas, algumas já conhecidas dentro do grupo de pesquisa e bastante descritas na literatura.^{9, 19} As etapas, referentes a síntese dos pró-ligantes bpma, bpmamff e HPy₃, foram realizadas conforme descrito por Neves para o bpma²⁰, Karsten para o bpmamff²¹ e por Greatti para o HPy₃²². A sequência de etapas que foi seguida é apresentada no esquema da Figura 4, e a descrição do procedimento da síntese desses pró-ligantes, tanto quanto suas caracterizações, está descrito na literatura.^{9,22} Com o ligante HPy₃ sintetizado e caracterizado prosseguiu-se para a síntese do ligante H₂py₃mff, e na sequência o ligante LABF.

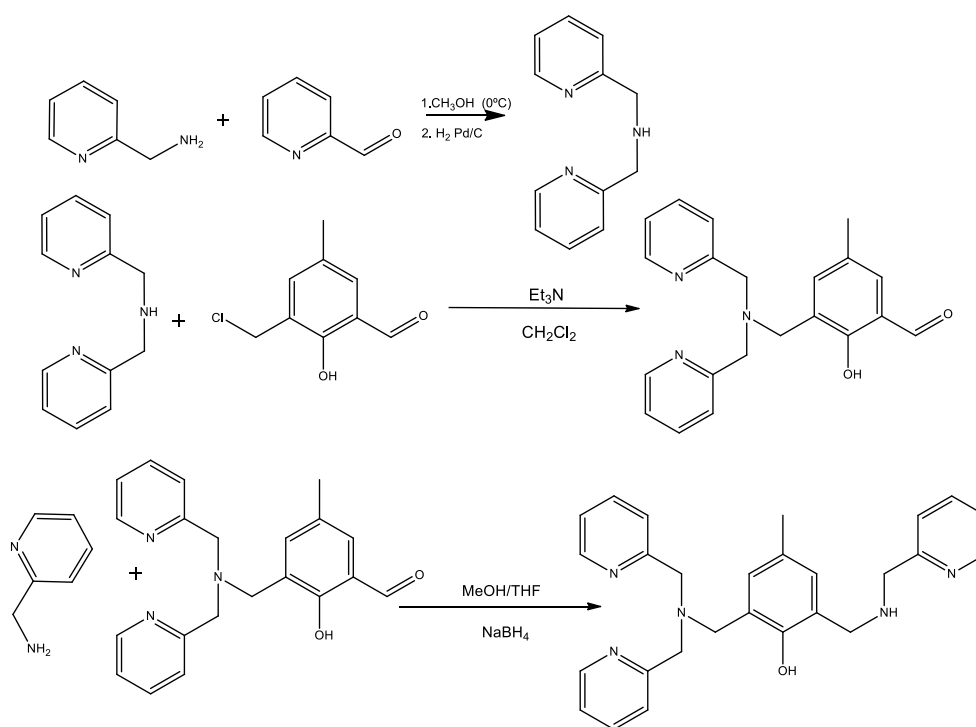


Figura 4. Esquema da síntese dos pró-ligantes, segundo descrito por Neves²⁰, Karsten²¹ e Greatti²², e sintetizado segundo descrito por Heying.⁹

4.3.2 Síntese do ligante 2-[N-bis-(2-piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-[N-(2hidroxi-3-formil-5-metilbenzil)(2piridilmetil)aminometil]fenol - H₂py₃mff

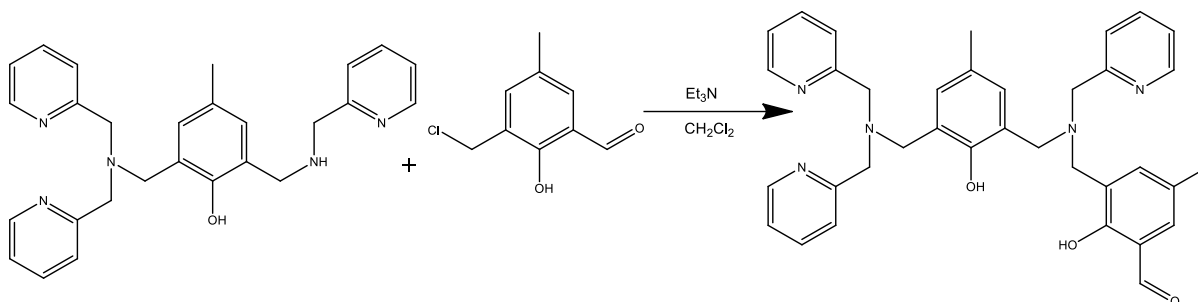


Figura 5. Esquema da síntese do H_2py_3mff , segundo descrito por Piovezan *et al.*²³

Em um balão de 250 mL adicionaram-se 3,61 g de HPy_3 (8,2 mmol; 440,45 g mol^{-1}) solubilizados em 125 mL de diclorometano juntamente com 1,20 mL de trietilamina (8,2 mmol; 101,19 g mol^{-1} ; 0,726 g mL^{-1}). A esta solução foram adicionados 1,51 g de cmff (8,2 mmol; 184,62 g mol^{-1}), e a mistura reacional ficou em refluxo e agitação em uma temperatura entre 45 - 50°C por 6 dias. Decorrido esse tempo e após resfriar, a solução foi vertida em um funil de separação e lavada com solução saturada de $NaHCO_3$ (10 x 15 mL). A fase orgânica foi separada e seca com sal secante Na_2SO_4 , filtrada, e o solvente foi retirado sob pressão reduzida a 40°C. O óleo foi deixado sob pressão reduzida por 3 horas, e houve a formação de 4,39 g de um sólido de coloração amarelada, com um rendimento de 91% em relação ao HPy_3 .

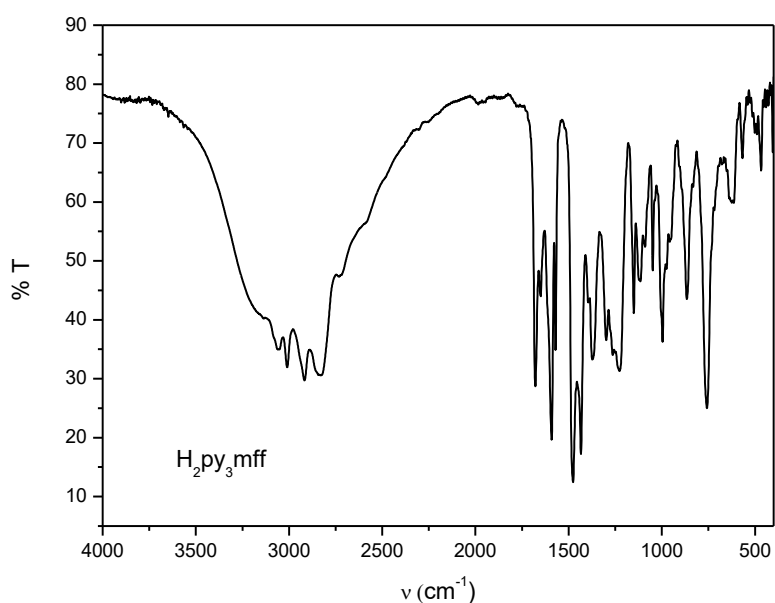


Figura 6. Espectro na região do IV em pastilha de KBr do composto H_2py_3mff .

IV (KBr), em cm^{-1} : ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3058-2833; ν (C-H_{ald}) 2870 - 2773; ν (C=O) 1678; ν (C=N e C=C) 1602-1435; δ ($\text{O-H}_{\text{fenol}}$) 1373; ν (C-O) 1262; δ (C-H_{ar}) 763.

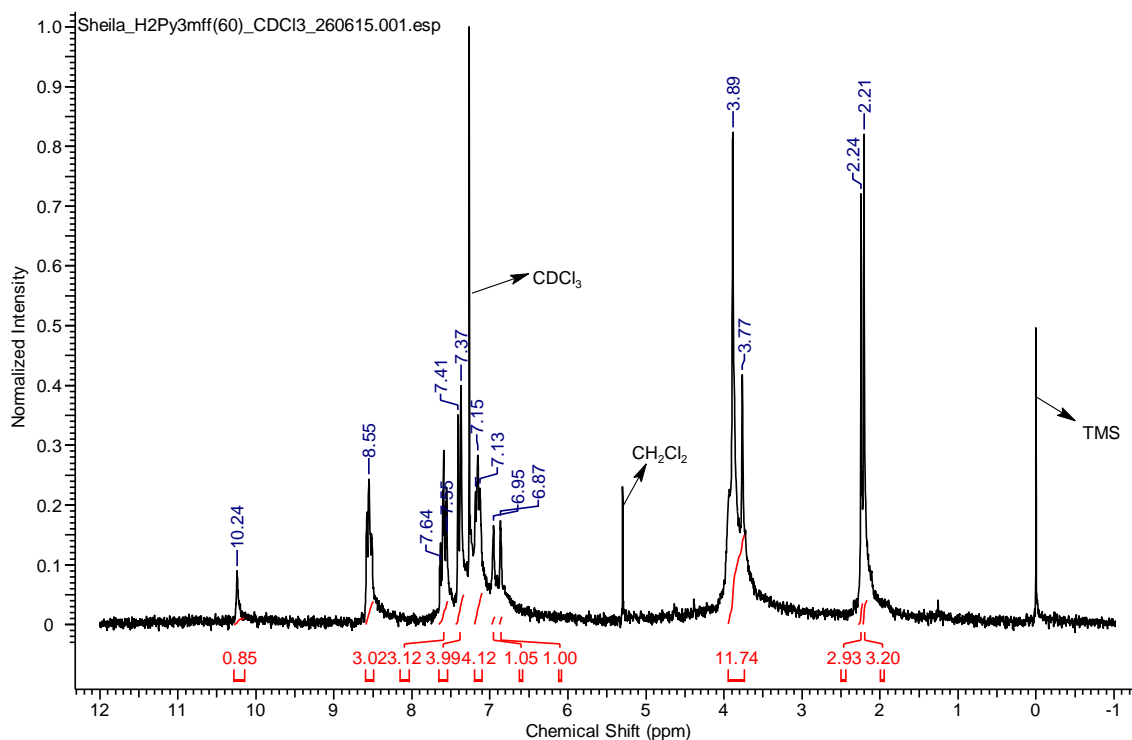


Figura 7. Espectro de RMN ^1H em 200 MHz e CDCl_3 do composto $\text{H}_2\text{py}_3\text{mff}$.

RMN de ^1H (200 MHz; CDCl_3) δ/ppm : 2,21 (s, 3H, CH_3); 2,24 (s, 3H, CH_3); 3,77 - 3,89 (m, 12H, CH_2); 6,87 (s, 1H, CH_{ar}); 6,95 (s, 1H, CH_{ar}); 7,13 - 7,15 (m, 4H, CH_{ar}); 7,37 - 7,41 (m, 4H, CH_{ar}); 7,55 - 7,64 (m, 3H, CH_{ar}); 8,55 (tt, 3H, CH_{ar}); 10,24 (s, 1H, CH_{ald}).

4.3.3 Síntese do ligante *N1-ferrocenilbutano-1,4-diamina - DAB-Fer*

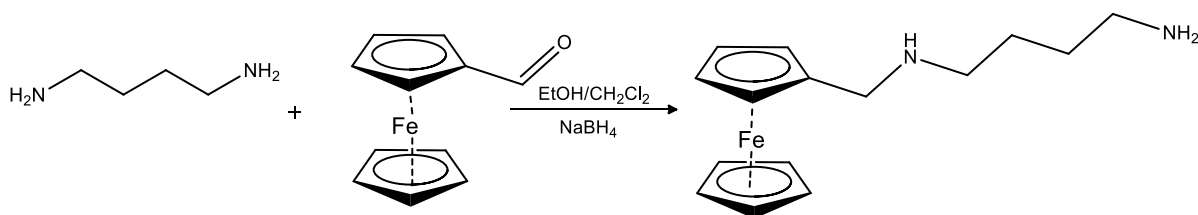


Figura 8. Esquema da síntese do ligante DAB-Fer.

Em um balão de 250 mL foram solubilizados 3,00 mL de 1,4-diaminobutano (30 mmol; 88,15 g mol⁻¹; 0,877 g mL⁻¹) em 80 mL de uma mistura de etanol/diclorometano (1:1). Com um funil de adição foram adicionados 1,07 g de ferrocenocarboxialdeído (5 mmol; 214,04 g mol⁻¹) solubilizados em 40 mL de diclorometano. Após a adição, foram acrescentadas algumas gotas de ácido acético glacial e a reação ficou agitando em temperatura ambiente por 24h. Decorrido esse tempo, a reação foi colocada em banho de gelo e foi realizada a redução com 0,23 g de NaBH₄ (6 mmol; 37,83 g mol⁻¹), deixando-se uma hora em agitação e banho de gelo logo após o fim da adição do boro-hidreto de sódio. Em seguida, foi adicionado uma quantidade estequiométrica de ácido clorídrico, deixando-se mais uma hora em agitação (o banho de gelo não é mais necessário). O solvente foi então retirado sob pressão reduzida, e o óleo laranja resultante foi solubilizado em diclorometano, e extraído com uma solução de NaCl saturada (aproximadamente 10 x 20 mL). A fase orgânica foi então seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi retirado sob pressão reduzida, resultando num óleo castanho, de massa 1,19 g, 83% de rendimento em relação ao ferrocenocarboxialdeído.

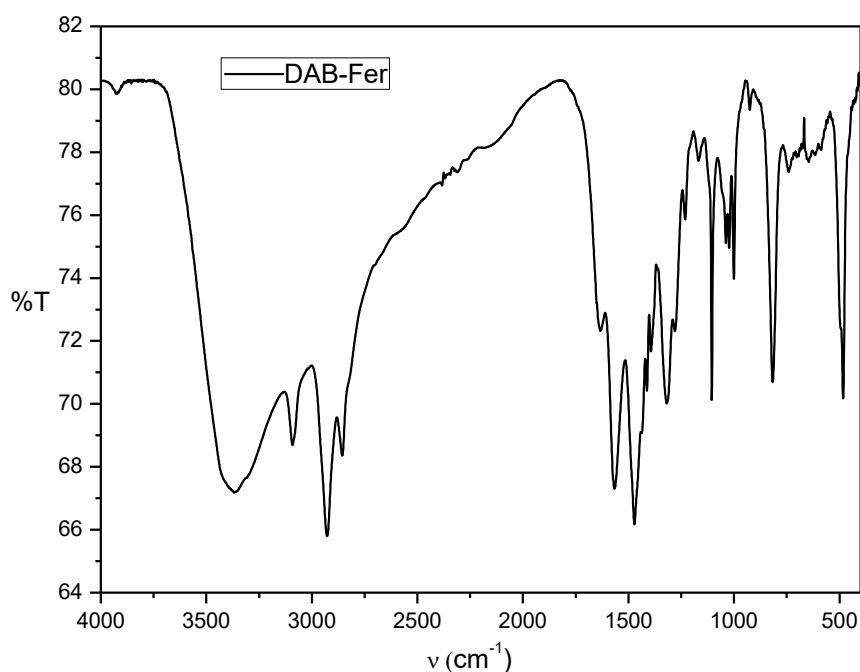


Figura 9. Espectro na região do IV em filme sobre pastilha de KBr do composto DAB-Fer.

IV (KBr), em cm⁻¹: ν (C-H_{ar} e C-H_{alif}) 3091 - 2766; ν (N-H) 3369-2856; ν (C=N e C=C) 1572-1462; ν (C-N) 1101; δ (C-H_{ar}) 763.

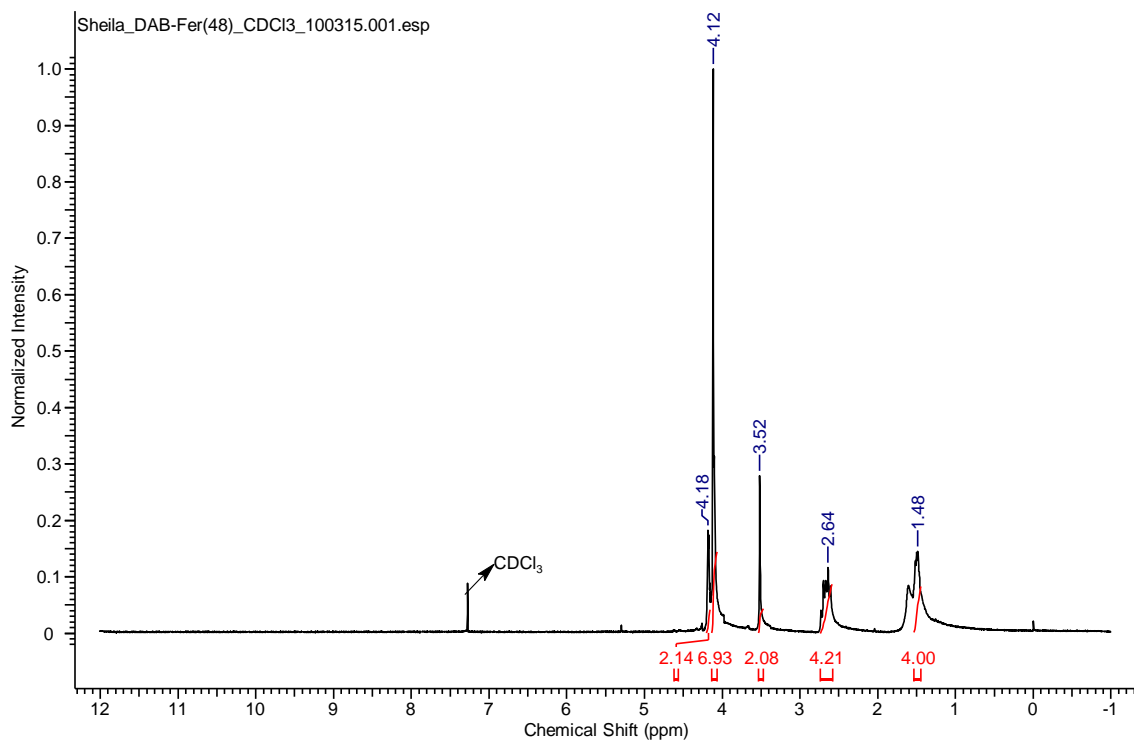


Figura 10. Espectro de RMN ^1H em 200 MHz e CDCl_3 do composto DAB-Fer.

RMN de ^1H (200 MHz; CDCl_3) δ/ppm : 1,48 (m, 4H, CH_2); 2,64 (m, 4H, CH_2); 3,52 (s, 2H, CH_2); 4,12-4,18 (m, 9H, CH_{ar}).

4.3.4 Síntese do ligante 2-[[bis(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-6-[[({2-hidroxi-5-metil-3-[[4-[(ferrocen-1-ilmetil)amino]butil]amino)metil]fenil}metil)(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-4-metilfenol - LABF

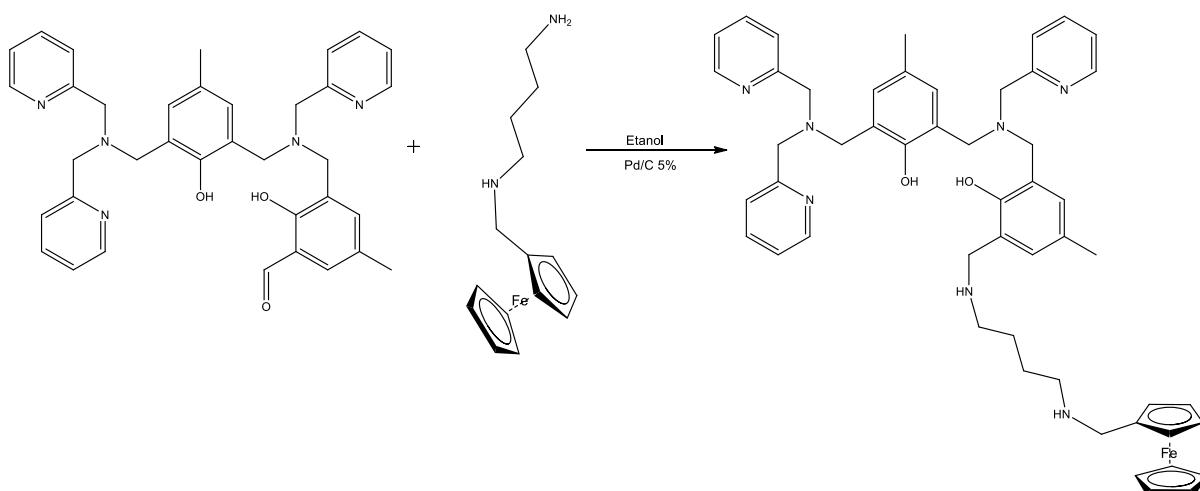


Figura 11. Esquema da síntese do ligante LABF.

Em um balão de 125 mL foram solubilizados 0,86 g de DAB-Fer (3 mmol; $286,04 \text{ g mol}^{-1}$) em etanol. Com o auxílio de um funil de adição 1,76 g de $\text{H}_2\text{py}_3\text{mff}$ (3 mmol; $587,72 \text{ g mol}^{-1}$) solubilizados em etanol foram adicionados ao primeiro, de forma lenta. Após a adição foram adicionadas à mistura reacional algumas gotas de ácido acético glacial, e a reação ficou em refluxo e agitação em uma temperatura de aproximadamente 60°C por 5 dias. Decorrido esse tempo a solução foi resfriada à temperatura ambiente e então transferida para um recipiente adequado e 0,15 g de paládio/carbono 5% foi adicionado lentamente a essa solução e a mesma foi mantida sob atmosfera de hidrogênio 40 psi e agitação por 15 horas. Na sequência, a mistura foi filtrada para separar o catalisador e o solvente, e o líquido castanho foi concentrado sob pressão reduzida a 50°C , formando um óleo vermelho escuro, que foi então exaustivamente lavado com acetato de etila para a retirada de impurezas remanescentes, obtendo-se 0,80 g do ligante final, com um rendimento de 31% em relação ao $\text{H}_2\text{py}_3\text{mff}$.

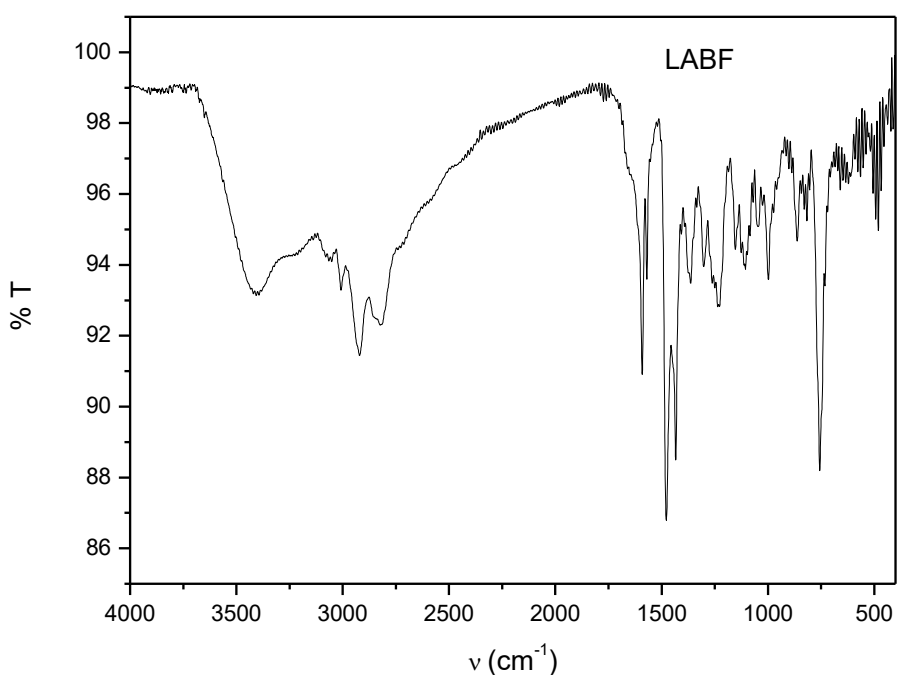


Figura 12. Espectro na região do IV em filme sobre pastilha de KBr do ligante final LABF.

IV (KBr), em cm^{-1} : $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$ e $\text{C-H}_{\text{alif}})$ 3070 a 2822; $\nu(\text{N-H})$ 3480 a 3429; $\nu(\text{C-N})$ 1363 a 1249; $\nu(\text{C=N e C=C})$ 1589 a 1430; $\nu(\text{C-O})$ 1244; $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$ 755.

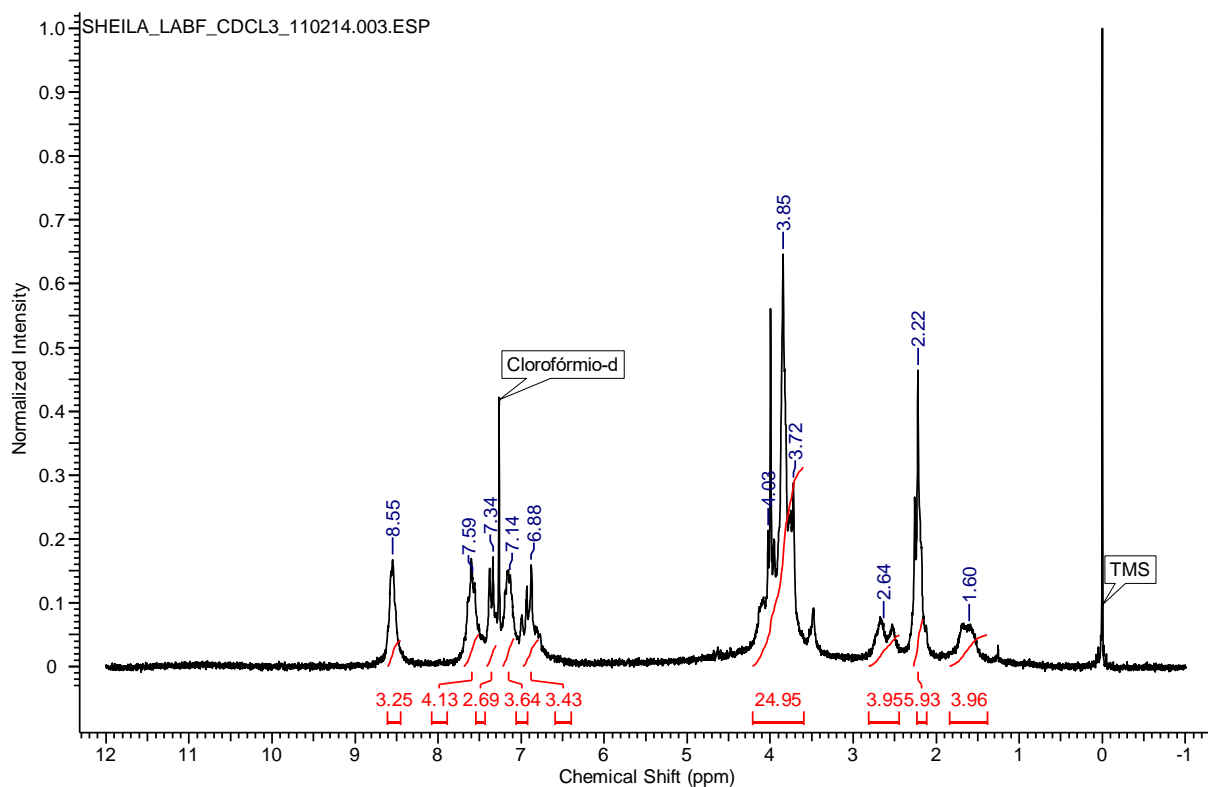


Figura 13. Espectro de RMN ^1H em 200 MHz e CDCl_3 do composto LABF.

RMN de ^1H (200 MHz; CDCl_3) δ/ppm : 1,60 (m, 4H, CH_2); 2,22 (s, 6H, CH_3); 2,64 (m, 4H, CH_2); 3,72 - 4,03 (m, 25H, CH_2 e CH_{ar}); 6,88 (m, 3H, CH_{ar}); 7,14 (m, 3H, CH_{ar}); 7,34 (m, 3H, CH_{ar}); 7,59 (m, 4H, CH_{ar}); 8,55 (s, 3H, CH_{ar}).

4.4 Síntese do complexo heterobinuclear

4.4.1. Síntese do complexo perclorato de μ -hidroxo-2-[[bis(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-6-[[({2-hidroxi-5-metil-3-[[{4-[(ferrocen-1-ilmetil)amino]butil}amino]metil]fenil}metil)(piridin-2-ilmetil)amino]metil]-4-metilfenol ferro(III) zinco(II) - CABF_FeZn

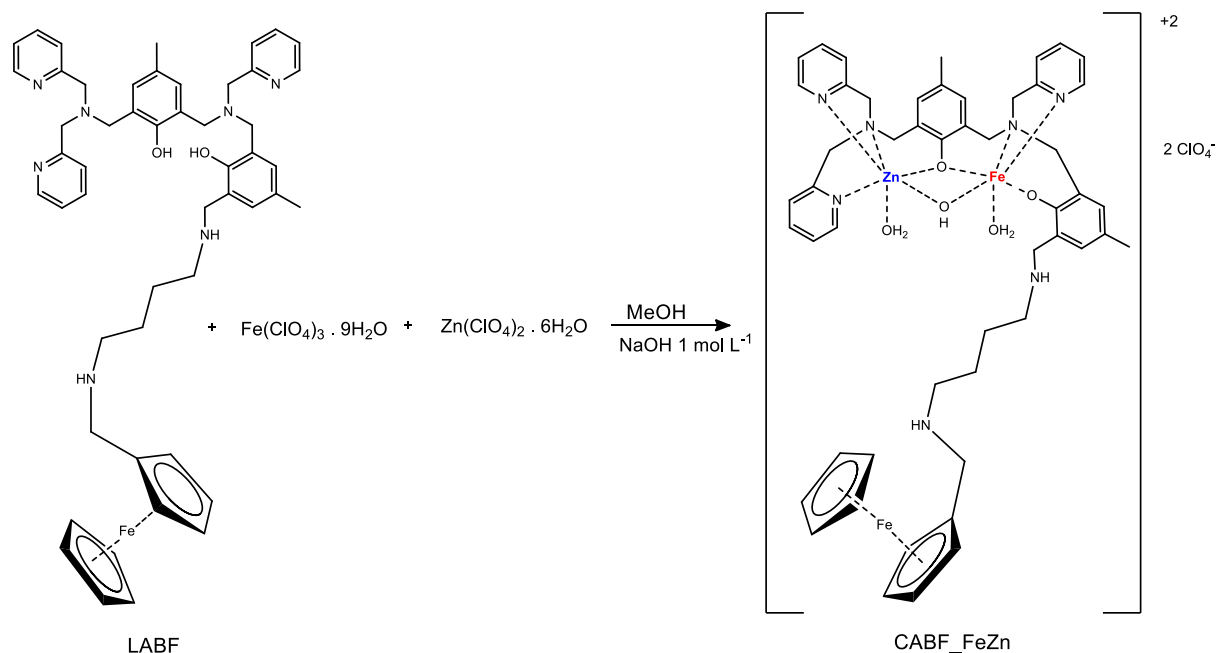


Figura 14. Esquema da síntese do complexo binuclear de Fe(III) e Zn(II) com o ligante LABF e sua provável estrutura, segundo proposto para compostos semelhantes.²⁴

Em um béquer de 600 mL adicionou-se uma solução de 0,45 g do ligante LABF (0,524 mmol, 857,92 g mol⁻¹) em 200 mL de metanol. Em seguida adicionou-se 0,195 g de perclorato de zinco hexa-hidratado (0,524 mmol, 372,36 g mol⁻¹). Nessa mistura reacional foi adicionada muito lentamente uma solução metanólica de 0,271 g de perclorato de ferro(III) nona-hidratado (0,524 mmol, 516,20 g mol⁻¹) (200mL). Após a adição da solução de ferro(III), a solução que inicialmente era amarela pálida, tornou-se roxa intensa. Adicionou-se então dois equivalentes de hidróxido de sódio (1,5 mL de uma solução 1 mol L⁻¹) e a solução tornou-se vermelha intensa. O volume de solvente foi reduzido a 40 mL em chapa de aquecimento e a solução foi filtrada em um béquer de 100 mL e deixada cristalizar. Sem a formação de cristais, adicionou-se éter etílico, e o produto se apresentou como um pó de coloração roxa escura.

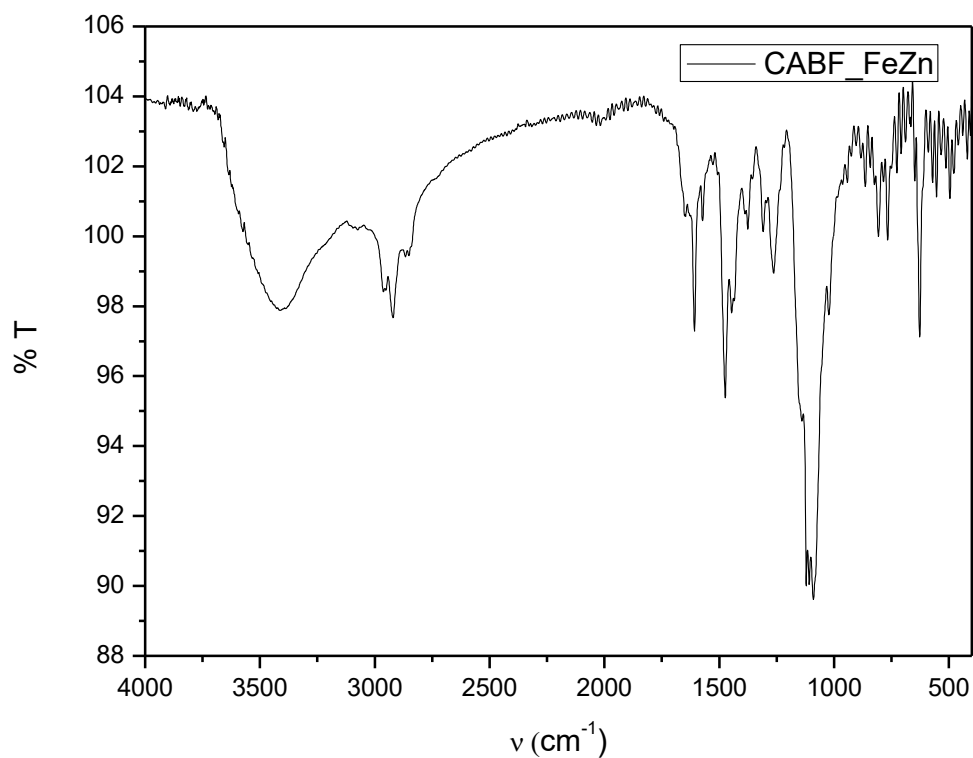


Figura 15. Espectro na região do IV em KBr do complexo binuclear CABF_FeZn.

IV (KBr), em cm^{-1} : ν (O-H) 3408; ν (N-H) 2945 - 2838; ν (C-H_{ar} e CH_{alif}) 3107 - 2711; ν (C=N e C=C) 1650 - 1401; ν (C-N) 1373 - 1255; ν (C-O) 1102; δ (C-H_{ar}) 624.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese dos ligantes

A síntese do ligante de interesse requereu uma série sintética de várias etapas. A síntese dos pró-ligantes foi realizada como descrita na literatura, obtendo-se os mesmos com rendimentos satisfatórios. Bpma, bpmamff e HPy₃ foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho e RMN ¹H, tendo como resultado um grau de pureza adequado para o prosseguimento da rota sintética.

O pró-ligante H₂py₃mff foi sintetizado através de uma reação do tipo substituição nucleofílica bimolecular do nitrogênio do HPy₃ no carbono ligado ao cloro no cmff. A reação foi feita com adição de base trietilamina na solução do HPy₃ para aumentar o caráter nucleofílico desse nitrogênio ao realizar o ataque ao cmff.

O pró-ligante DAB-Fer foi sintetizado através de uma aminação redutiva pela formação de uma imina C=N seguida pela sua redução com boro-hidreto de sódio. Foram utilizadas gotas de ácido acético glacial como catalisador ácido da reação a fim de aumentar o caráter eletrofílico do carbono da carbonila do ferrocencarboxialdeído, levando a formação da imina. A adição de uma quantia estequiométrica de ácido clorídrico serviu para neutralizar o meio (excesso de diamina na reação) e também para destruir possíveis sais de boranos gerados pela redução, ajudando na purificação do ligante.

O ligante LABF foi sintetizado também via aminação redutiva da amina DAB-Fer diluída em etanol com a adição do H₂py₃mff. Novamente uma quantia catalítica de ácido foi adicionada ao meio reacional a fim de facilitar a reação de formação da imina. A redução foi realizada por hidrogenação catalítica sobre Pd/C 5%, buscando-se uma redução mais limpa e sem a possível formação de sais interferentes gerados pelo uso do sal redutor. O ligante LABF não se mostrou solúvel em acetato de etila, enquanto os pró-ligantes DAB-Fer e H₂py₃mff o foram, fazendo com que lavagens com esse solvente retirassem os ligantes que permaneceram no meio sem reagir.

O pró-ligantes H₂py₃mff e DAB-Fer foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho e RMN ¹H, e o ligante LABF, além dessas duas técnicas, ainda foi caracterizado por voltametria cíclica devido a sua unidade ferroceno apresentar potencial redox ¹¹ e por espectroscopia de UV-vis na presença de agente oxidante, mostrando o surgimento da espécie ferrocínio.²⁵ As caracterizações revelaram que os ligantes apresentavam um grau de pureza adequado que permitiu a posterior

síntese do complexo binuclear. Os rendimentos experimentais dos pró-ligantes H_2py_3mff e DAB-Fer se mostraram bastante altos, mostrando o bom desenvolvimento e escolha da rota sintética. O ligante LABF, entretanto, apresentou um rendimento mais baixo quando comparado aos seus pró-ligantes, podendo ser explicado pelo possível fator de impedimento estérico envolvido.²⁶ A reação de sua formação é dada por um ataque nucleofílico do nitrogênio mais livre da DAB-Fer ao centro eletrofílico carbonílico do H_2py_3mff . Essa aproximação dos dois reagentes pode sofrer forte interferência dos seus respectivos tamanhos, logo a presença de uma grande estrutura orgânica de um lado, somado a presença do organometálico do outro acaba por gerar uma dificuldade estérica para a reação ocorrer, o que muito provavelmente explica o rendimento mais baixo obtido.

5.2 Síntese do complexo binuclear Fe(III)/Zn(II)

A síntese do complexo binuclear foi realizada pela solubilização do ligante em um béquer e adição do sal de zinco (II) primeiro, e depois posterior adição lenta do sal de ferro (III). A adição inicial do zinco se deve a labilidade do metal Zn(II) ser mais alta que a do Fe(III), ou seja, o cátion Zn^{+2} quando coordenado tende a sofrer uma troca de ligantes mais facilmente que o íon Fe^{+3} , que é mais "inerte" nesse sentido. Desse modo, adicionou-se o sal de zinco no ligante e a medida que se iniciou a adição da solução contendo o metal de valência 3+, o mesmo foi se coordenando em um dos sítios, formando o complexo heterobinuclear.¹

O Zn^{+2} é um cátion e desse modo um ácido de Lewis, assim como o Fe^{+3} . Dentro desse conceito de acidez e basicidade, há a classificação de dureza e maciez, que foi introduzida por R. G. Pearson, e se baseia na tendência de polarizabilidade do íon. Entre os dois cátions em questão, o zinco (II) é considerado um ácido de fronteira ou até mesmo macio quando comparado com o ferro (III), que é um ácido mais duro. Uma maior estabilidade se dá quando um ácido duro se liga a uma base dura, assim como um ácido macio e uma base macia, quando coordenados, tendem a formar um par mais estável.¹ Analisando-se os dois centros de coordenação formados no ligante LABF é possível notar a presença de uma assimetria já gerada no ligante H_2py_3mff , onde há um lado que permite coordenação mais macia, pela presença dos nitrogênios das piridinas e o outro lado mais duro, com a presença do oxigênio da unidade $cmff$. Entre as bases, as que contêm nitrogênio, no geral, apresentam um caráter maior de maciez, fazendo com que o

zinco, mais macio, permaneça coordenado no lado de maior número de piridinas, enquanto o ferro tenha tendência a se coordenar onde há maior caráter de dureza, presente no ligante na forma do oxigênio do fenol do cmff (Figura 14). Sendo assim, após a adição dos sais dos metais, o Zn^{+2} que está coordenado no sítio com o oxigênio, pela sua labilidade, "cede" lugar ao Fe^{+3} , que por sua menor labilidade e maior caráter de dureza permanece coordenado, permitindo a "heterobinuclearidade" do complexo.

Na solução do composto inorgânico foi então adicionado éter etílico, formando um pó cristalino, mas sem formação de monocristais adequados para estudos difração de raios X, sendo assim usado para as caracterizações por espectroscopia na região do infravermelho e do ultravioleta visível, além da técnica eletroquímica de voltametria cíclica e os testes cinéticos frente ao substrato modelo 2,4-BDNPP.

5.3 Caracterização dos compostos

5.3.1 Espectroscopia na região do infravermelho - IV

Os espectros na região do infravermelho primariamente mostram algumas informações importantes sobre o decorrer da síntese dos pró-ligantes e do ligante final. Na Tabela 1 na sequência, os valores referentes às vibrações de deformações axiais e angulares mais importantes são apresentadas. Os valores referentes ao pró-ligante HPy_3 são encontrados na literatura.¹⁹

Pelos valores encontrados para as deformações das ligações das moléculas pode-se notar que as reações que se seguiram até a formação do LABF foram acontecendo como previsto. Isso pode ser notado, por exemplo, pelo estiramento ($\text{C}=\text{O}$) do aldeído próximo a 1700 cm^{-1} , que após a aminação redutiva com o DAB-Fer não mais aparece no espectro do LABF.²⁷ Outro comprovante da síntese do ligante final é a variação, mesmo que pequena, dos valores de outras deformações de ligações, assim como suas intensidades relativas, que se dão pelo fato de o ambiente da molécula estar se modificando junto com a sequência de reações.²⁷

Tabela 1. Principais bandas observadas no espectro na região do infravermelho dos ligantes HPy₃¹⁹, H₂py₃mff, DAB-Fer e LABF, em número de onda (cm⁻¹).

Atribuições	HPy ₃ ¹⁹	H ₂ py ₃ mff	DAB-Fer	LABF
v(C-H_{ar} e C-H_{alif})	3061 a 2824	3058-2833	3091 - 2766	3070 a 2822
v (C=O)	-	1678	-	-
v (C=N e C=C)	1592 a 1434	1602-1435	1572-1462	1589 a 1430
δ (O-H_{fenol})	1364	1373	-	1335
v (C-O_{fenol})	1233	1262	-	1244
v (C-N)	1149	1297-1213	1101	1363 - 1249
δ (C-H_{ar})	761	763	763	755
v (N-H)	-	3058-3003	3369-2856	3480 - 3429

A formação do complexo binuclear também pode ser vista pelas mudanças do espectro do ligante quando comparado com o do complexo (Figura 16). A presença das variações das deformações do ligante (Tabela 2) e nas intensidades relativas mostram que houve uma mudança, devido a coordenação do ligante aos dois centros metálicos. Exemplos dessa coordenação podem ser vistas pela intensidade da banda de estiramento referente a deformação angular (O-H_{fenol}), que é diminuída, indicando a coordenação desse grupo ao centro metálico.²⁷ Outro indício da formação do complexo é o aparecimento do estiramento axial (Cl-O) referente ao contra-íon perclorato próximo a 1090 cm⁻¹, mostrando a existência dessa espécie no complexo formado.^{27,28}

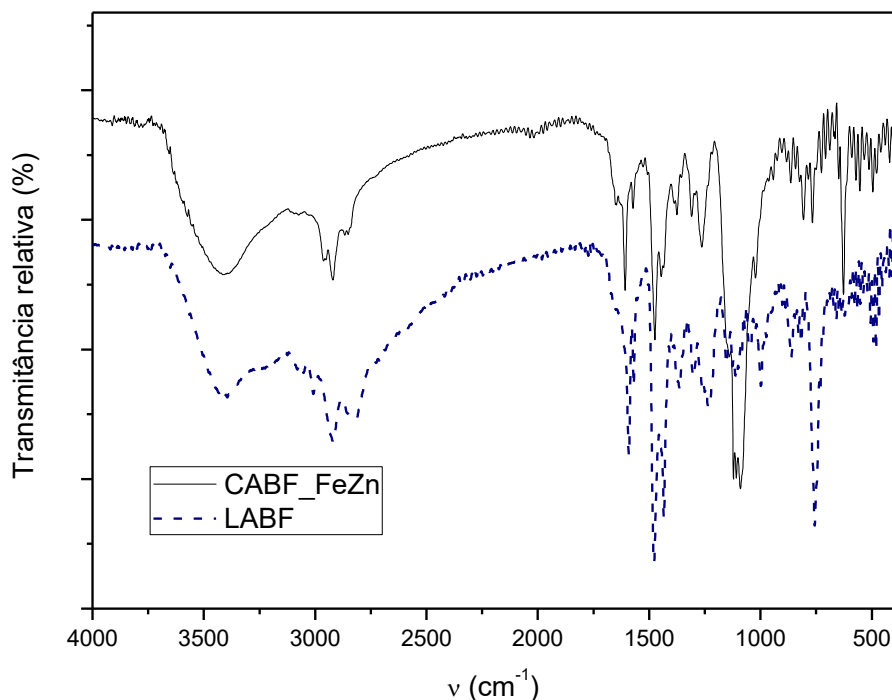


Figura 16. Sobreposição dos espectros do ligante LABF (inferior, tracejado) e do complexo CABF_FeZn (superior, linha cheia), realizados sobre pastilha de KBr.

Tabela 2. Principais bandas observadas no espectro na região do infravermelho do ligante LABF e do complexo CABF_FeZn, em número de onda (cm^{-1}).

Atribuições	LABF	CABF_FeZn
$\nu(\text{C-H}_{\text{ar}} \text{ e } \text{C-H}_{\text{alif}})$	3070 a 2822	3107 - 2711
$\nu(\text{C=N e C=C})$	1589 a 1430	1650 - 1401
$\delta(\text{O-H}_{\text{fenol}})$	1335	-
$\nu(\text{C-O}_{\text{fenol}})$	1244	1255
$\nu(\text{C-N})$	1363 - 1249	1373 - 1255
$\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$	755	624
$\nu(\text{N-H})$	3480 - 3429	2945 - 2838
$\nu(\text{Cl-O})$	-	1102

5.3.2 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio - RMN ^1H

Os espectros de RMN ^1H dos ligantes foram feitos e corroboraram a estruturas propostas dos ligantes, tendo suas integrais coerentes com o número de hidrogênios da molécula que são detectáveis pela técnica, sendo que cada ligante apresentou uma característica relevante da sua estrutura.

O ligante H_2py_3mff , por exemplo, por apresentar um aldeído em sua estrutura, apresentou como esperado um pico do tipo singleto de $1H$ na região mais a esquerda do espectro, próximo a 10,3 ppm. O ligante DAB-Fer mostrou os 8 hidrogênios referentes a diamina, assim como os 9 hidrogênios do organometálico na região entre 4-5 ppm. O ligante final LABF, que não mais apresenta em sua composição um aldeído, tem sua estrutura comprovada pela ausência do pico singleto em 10,3 ppm, e ainda assim contendo os 9 hidrogênios do ferroceno, que em seu espectro saem próximos aos outros hidrogênios aromáticos, deixando essa região bastante indistinta. Porém, tendo em conta os 55 hidrogênios detectáveis da molécula, e comparando-se o espectro do LABF com os seus respectivos pró-ligantes pode-se corroborar que, mesmo com a complexidade da molécula, todos os hidrogênios se mostraram presentes no RMN e em regiões coerentes com suas funções orgânicas.²⁷

5.3.3 Condutimetria

A condutimetria do $CABF_FeZn$ foi realizada em uma solução $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em acetonitrila, resultando em uma condutividade molar (Λ_m) de $215,80 \mu\text{S cm}^{-1}$ que, quando comparada com a literatura¹⁷ indica a presença de uma carga de dois íons positivos por molécula de complexo, inferindo a presença de 2 contra-íons perclorato. Segundo Geary¹⁷ os valores de condutividade entre $220\text{-}260 \mu\text{S cm}^{-1}$ são encontrados em eletrólitos divalentes em concentração $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, portanto pode-se constatar que o composto analisado apresenta cátion de carga +2, o que condiz com a estrutura proposta na Figura 14.

5.3.4 Espectroscopia na região do ultravioleta visível - UV-Vis

Pela presença da unidade ferroceno na estrutura do ligante, uma análise de espectroscopia na região do ultravioleta visível foi realizada com o ligante LABF. O ligante foi solubilizado em diclorometano com posteriores adições de alíquotas de uma solução de $(NH_4)_2Ce^{IV}(NO_3)_6$ em acetonitrila, agindo como agente oxidante forte, gerando o íon ferrocínio no meio. O espectro do ferroceno (Fc) é composto basicamente de 3 bandas principais, sendo que duas delas são facilmente monitoradas na região do UV-Vis por serem de baixa intensidade, do tipo d-d em 440 nm e 325 nm, com ϵ de $96 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e $55 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, respectivamente.²⁹ A

formação do íon ferrocínio (Fc^+) pode ser monitorada pelo aumento da absorvância em 380 a 500 nm.²⁵

A adição da solução oxidante no ligante LABF foi monitorada entre 300 a 500 nm, e os espectros podem ser vistos na Figura 17. O comprimento de onda máximo foi apresentado em 410 nm com um ϵ de $1835 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, que condiz com o surgimento da espécie oxidada do ferroceno.²⁵ O valor do $\lambda_{\text{máx}}$ deslocou do valor do ferroceno puro devido ao fato de que o ligante contém mais do que o organometálico, mostrando a interferência do resto da molécula na absorção do composto.²⁹ Além disso o ϵ deu elevado pois a presença da carga na espécie ferrocínio faz com que a banda apresentada seja referente a uma possível transferência de carga referente ao ligante, e não mais uma transição do tipo d-d.

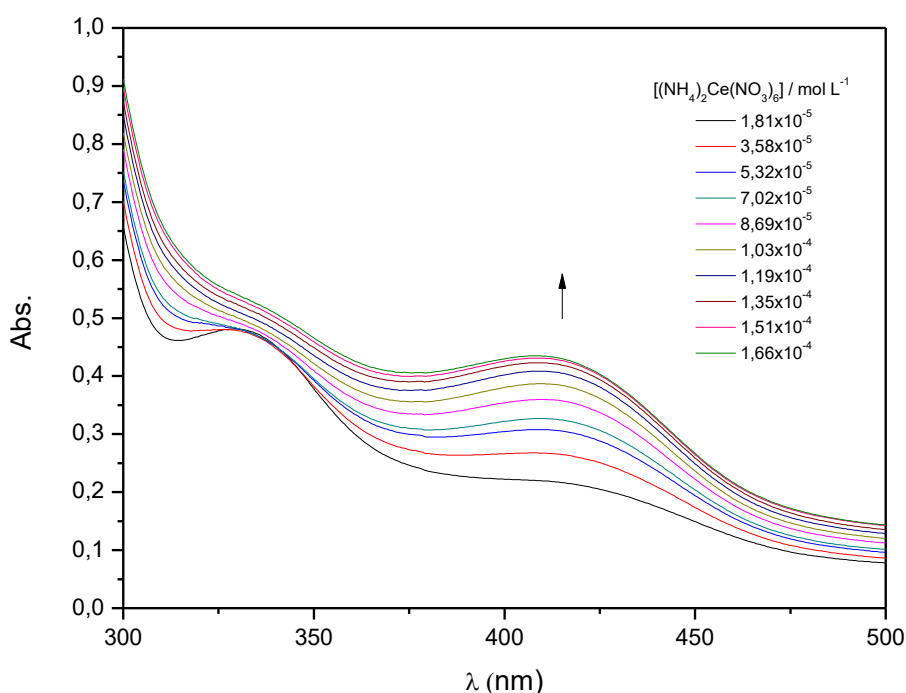


Figura 17. Espectros na região do UV-vis do ligante LABF com adições do agente oxidante nitrato de cério (IV) amoniacal. Condições: $[\text{LABF}]_{\text{cubeta}} = 5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_2Cl_2 ; $[(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6] = 1,81 \times 10^{-5}$ a $1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_3CN .

O espectro do complexo binuclear foi monitorado em acetonitrila entre 300 e 1000 nm (Figura 18), mostrando uma banda intensa na região de 500 nm que é atribuída a uma transferência de carga ligante \rightarrow metal (TCLM) dos orbitais $p\pi$ do

fenolato do ligante para os orbitais $d\pi^*$ do íon Fe(III) .³⁰ Essa TCLM foi detectada em um $\lambda_{\text{máx}}$ de 482 nm com $\epsilon = 2164 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ que condiz com os valores obtidos na literatura para compostos com sítios ativos e ambientes de coordenação semelhantes.^{9,19,24}

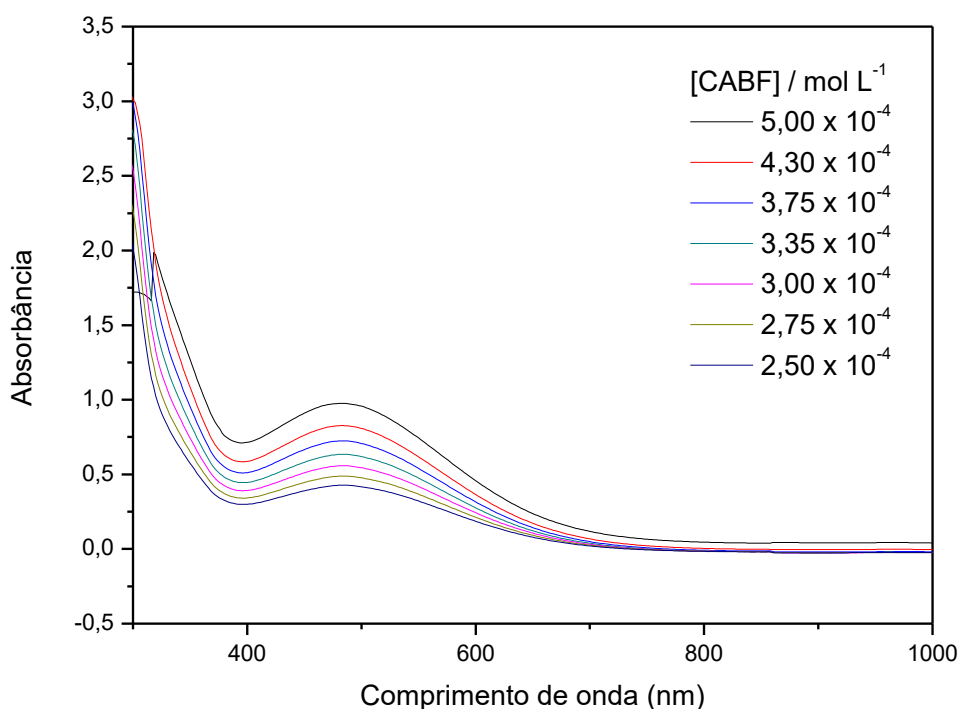


Figura 18. Espectro na região do UV-Vis em CH_3CN , do CABF_FeZn em diferentes concentrações.

Uma das diferenças entre o complexo CABF_FeZn e os demais encontrados na literatura^{9, 19} é um pequeno deslocamento no comprimento de onda para valores menores que 500 nm. Esta variação pode ser explicada pela presença da cadeia lateral da diamina com o ferroceno, que por atrações com o organometálico ou por ligações de hidrogênio da amina lateral com a água coordenada ao metal trivalente (ver Figura 14) podem vir a interferir de maneira relevante na densidade eletrônica inferida ao Fe(III) do complexo, gerando o deslocamento de $\lambda_{\text{máx}}$.²⁴

Outras bandas passíveis de ser detectadas nessa região do espectro, como as referentes às transições d-d do íon Fe(III) e do ferroceno do ligante LABF, não puderam ser observadas pois ficaram suprimidas pela TCLM na região de 500 nm, que é também a região onde seriam observadas essas transições d-d.^{1, 29}

5.3.5 Eletroquímica

O ligante LABF apresenta o diferencial em sua análise pela presença da unidade organometálica do ferroceno, que pelo átomo de ferro em sua composição apresenta relevante caráter redox.¹¹ Desse modo, uma voltametria cíclica do ligante foi realizada em diclorometano, utilizando-se o ferroceno como padrão interno para correção, sendo ele +400 mV vs NHE.³¹ O voltamograma cíclico (Figura 19) mostra um processo *quasi*-reversível do ferroceno do ligante em +314 mV, mostrando que a unidade ferroceno sofre influência da parte orgânica do ligante em que está inserido, o que altera de maneira significativa seu caráter redox, refletindo no seu potencial. Outros reagentes (Fc-CHO e Fc-OH) foram submetidos a mesma técnica para verificar a pureza do próprio ligante. Pode-se observar, pela complexidade da estrutura, que a reversibilidade do processo é afetada, mas mesmo assim, observa-se a presença do processo Fc/Fc⁺ no ligante, comprovando sua presença na molécula.

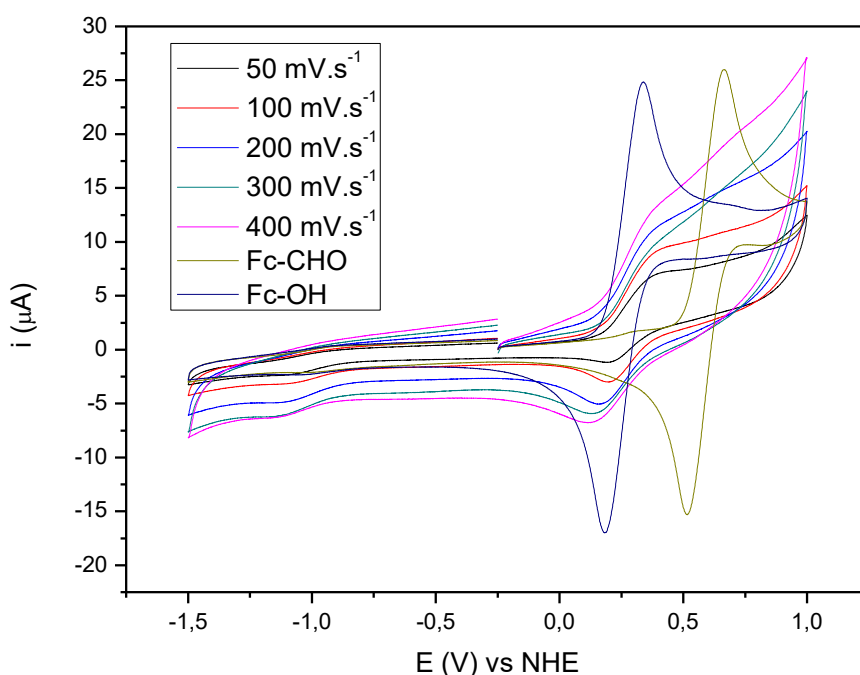


Figura 19. Voltamogramas cíclicos dos compostos LABF, ferrocenocarboxialdeído e ferrocenocarboxiálcool em CH₂Cl₂ na presença de TBAPF₆ 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte.

O complexo CABF_FeZn também foi submetido a análise por voltametria cíclica em diclorometano com correção para NHE via ferroceno como padrão interno (+400 mV vs NHE).³¹ O complexo apresenta como centros passíveis de atividade

redox o ferro na unidade ferroceno do ligante e o íon férrico complexado, uma vez que o Zn^{+2} não apresenta atividade de oxirredução na faixa de potencial estudada.³²

Analisando-se o voltamograma gerado é possível ver os processos distintos do ferro do organometálico e do ferro do centro de coordenação (Figura 20). O processo do $\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}$ foi em +118 mV e o outro processo referente a redução de Fc/Fc^+ foi encontrado em +379 mV. Quando comparado com o valor obtido para o processo do ligante percebe-se um aumento do valor do potencial desse ferro do ferroceno. Sabendo-se que quanto mais positivo for o valor do processo, maior será a tendência da espécie ganhar elétrons e desse modo, se reduzir³³, nota-se que o potencial de redução do ferroceno do ligante teve sua redução facilitada, mostrado pelo valor mais positivo do processo, quando no complexo. Essa diferença dos processos mostra que com a formação do complexo o ferroceno de algum modo modifica sua densidade eletrônica, deixando seu potencial de redução mais alto, ou seja, mesmo não estando ligado diretamente ao centro metálico, o ferroceno da cadeia lateral da segunda esfera de coordenação sofre a influência do ambiente gerado.

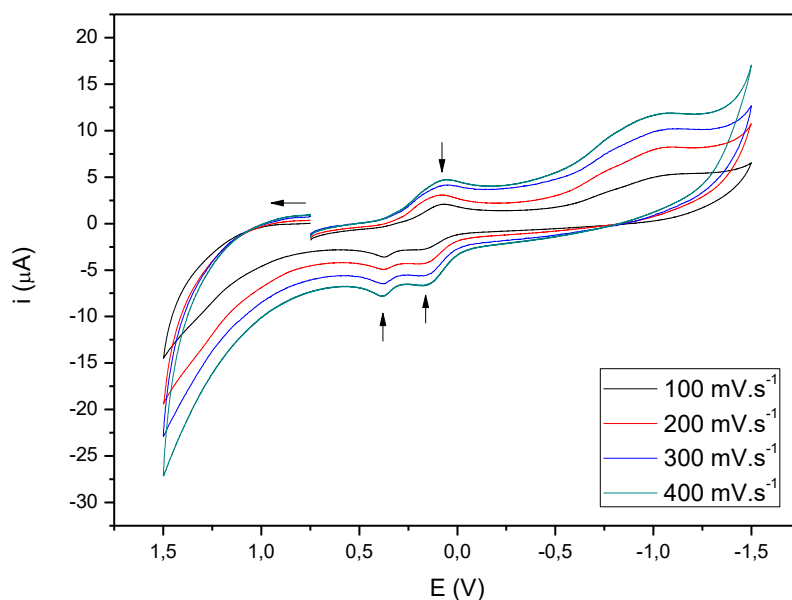


Figura 20. Voltamogramas cíclicos do composto CABF_FeZn, em CH_2Cl_2 na presença de TBAPF_6 0,1 mol.L⁻¹ como eletrólito suporte.

O processo referente ao metal ferro coordenado também sofre influência do ambiente em que se encontra. Segundo Lanznaster os processos redox $\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}$

sofrem bastante influência do pH do meio como mostrado no complexo FeZnbpbmp.³⁴ O potencial redox na espécie Fe-OH₂ é de aproximadamente -0,06 V vs. NHE. Com o aumento do pH há a formação da espécie Fe-OH o potencial é deslocado para valores próximos a -0,20 V vs. NHE, um valor muito mais negativo.³⁴ Com esse valor de potencial mais negativo devido a desprotonação da molécula de água coordenada ao centro de Fe^{III} mostra que o aumento da densidade eletrônica sobre o íon de ferro na estrutura interfere nos valores de potencial de redução encontrados no voltamograma.

Baseado no voltamograma e nas análises posteriores pode-se inferir que há um efeito no sítio de coordenação do complexo por ação da cadeia lateral referente à segunda esfera de coordenação do ligante. Como citado na análise por UV-Vis, a cadeia da diamina lateral pode interferir pela desprotonação dessa molécula de água ligada ao Fe⁺³ ou ainda pode ocorrer interferência por atrações de dipolo ou eletrostáticas²⁶ do próprio organometálico, que como visto também sofre variação em seus valores na medida em que muda do ambiente de ligante para complexo. Desse modo, sugere-se que existe uma interação do ferroceno com o ferro coordenado ao ligante, e assim há uma incidência menor de densidade eletrônica no ferroceno quando complexado do que quando ele está "livre" na forma do ligante LABF, sendo revelado pelos valores de potencial obtidos nos voltamogramas.

5.3.6 Medidas de reatividade na hidrólise de fosfatos

Um dos modos de se medir a atividade catalítica de compostos biomiméticos é através da reação desses compostos frente a substratos modelo, como é o caso do 2,4-BDNPP, que funciona como um substrato modelo para ésteres de fosfato, que mimetizam as ligações do DNA.⁹ O complexo CABF_FeZn foi sintetizado pensando-se em desenvolver um mimético para uma PAP⁷, então testes desse complexo atuando como catalisador na reação de hidrólise desse tipo de substrato (Figura 2) foram realizadas, a 25 °C, com excesso de substrato, seguindo uma cinética de pseudo-primeira ordem. Primeiro foram realizados testes buscando-se o pH ótimo de atuação e depois verificando os efeitos da adição crescente de substrato do meio.

Segundo mecanismo proposto por Klabunde *et al*¹⁰ para a hidrólise de ésteres de fosfato pelas PAPs, o substrato se aproxima da PAP, se ligando ao átomo

bivalente em uma posição mais lábil, substituindo uma molécula de água que anteriormente ali se coordenava. A acidez do metal trivalente então geraria a espécie nucleofílica hidróxido pela desprotonação da molécula de água coordenada a esse metal, que irá atacar o substrato, levando a quebra do éster de fosfato. Baseando-se nesse mecanismo, o complexo CABF_FeZn teria um mecanismo semelhante quando ligado ao substrato modelo 2,4-BDNPP: o substrato se ligaria ao Zn(II), liberando uma molécula de água pela labilidade maior desse metal, enquanto a espécie Fe(III)-OH seria gerada pela acidez do metal trivalente, fazendo a espécie hidróxido atacar o substrato, liberando o 2,4-dinitrofenolato, que é detectado espectrofotometricamente na região de 400nm.¹⁸

Pensando-se nesse mecanismo proposto por Klabunde¹⁰ foram realizados os testes para se estudar o efeito do pH, que foram medidos em triplicata, através de corridas cinéticas com 10 pHs diferentes, numa faixa de 4,0 até 9,0. O perfil obtido após a análise foi uma curva em forma de sigmóide, com um pH ótimo de 6,50, (Figura 21) que pode ser explicado pela variação das espécies geradas pela mudança de pH.

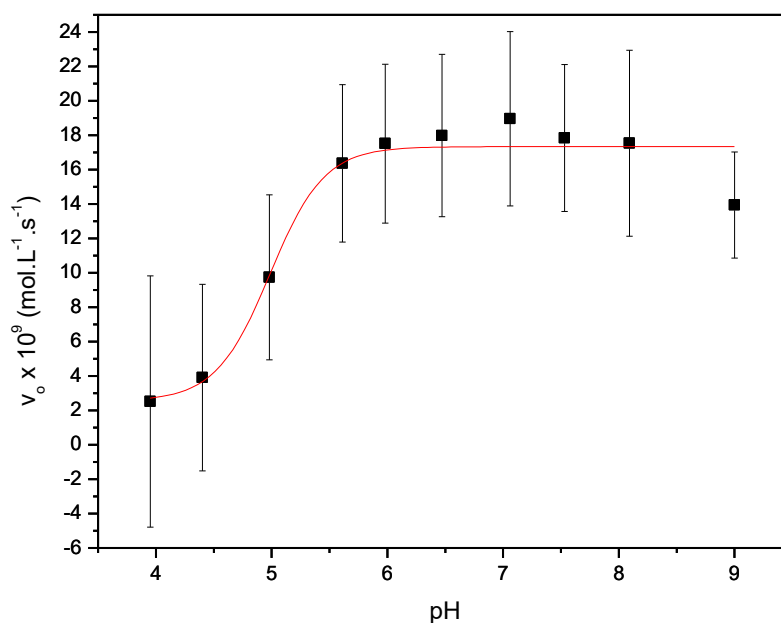


Figura 21. Dependência da velocidade inicial do complexo CABF_FeZn com o pH para a reação de hidrólise do 2,4-BDNPP. Condições: CH₃CN/H₂O (50:50, %v/v); [Complexo] = 4 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; [Substrato] = 2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹; [tampão] = 5 x 10⁻² mol L⁻¹; I = 5 x 10⁻² LiClO₄ mol L⁻¹.

Até o valor de pH ótimo, em 6,50, há uma crescente na concentração de uma espécie desprotonada, pelo aumento do pH. A espécie gerada é a $(\text{OH})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{OH}_2)$, que é o centro ativo mostrado na Figura 14, porém com a desprotonação da água ligada ao íon Fe^{+3} . Logo, nessa faixa de 4,0 até 6,5, observa-se um aumento na atividade catalítica devido ao aumento da concentração da espécie com o Fe-OH em relação a $(\text{OH}_2)\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{OH})\text{M}^{\text{II}}(\text{OH}_2)$, que não possui atividade catalítica pela ausência do nucleófilo proposto, que seria o ligante hidroxilo coordenado ao átomo de Fe(III).¹⁰ Depois que se atinge o pH ótimo, observa-se uma queda da atividade catalítica pela formação da espécie $(\text{OH})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{OH})$, que, não possui atividade significativa pois o grupo hidroxilo coordenado ao metal divalente não é tão lábil quanto uma água coordenada, dificultando sua substituição pelo substrato, o que também restringe a atividade catalítica.^{7, 10}

Outro valor retirado do estudo do efeito de pH é a obtenção do pKa cinético referente a desprotonação da água ligada ao íon Fe^{+3} , que mostra a espécie cineticamente ativa como $(\text{OH})\text{Fe}^{\text{III}}(\mu\text{-OH})\text{Zn}^{\text{II}}(\text{OH}_2)$. A Tabela 3 mostra o valor do pKa cinético obtido para o CABF_FeZn e valores referentes a compostos contidos na literatura (Figura 22) mostrando concordância com compostos de estrutura e centro ativo semelhante.

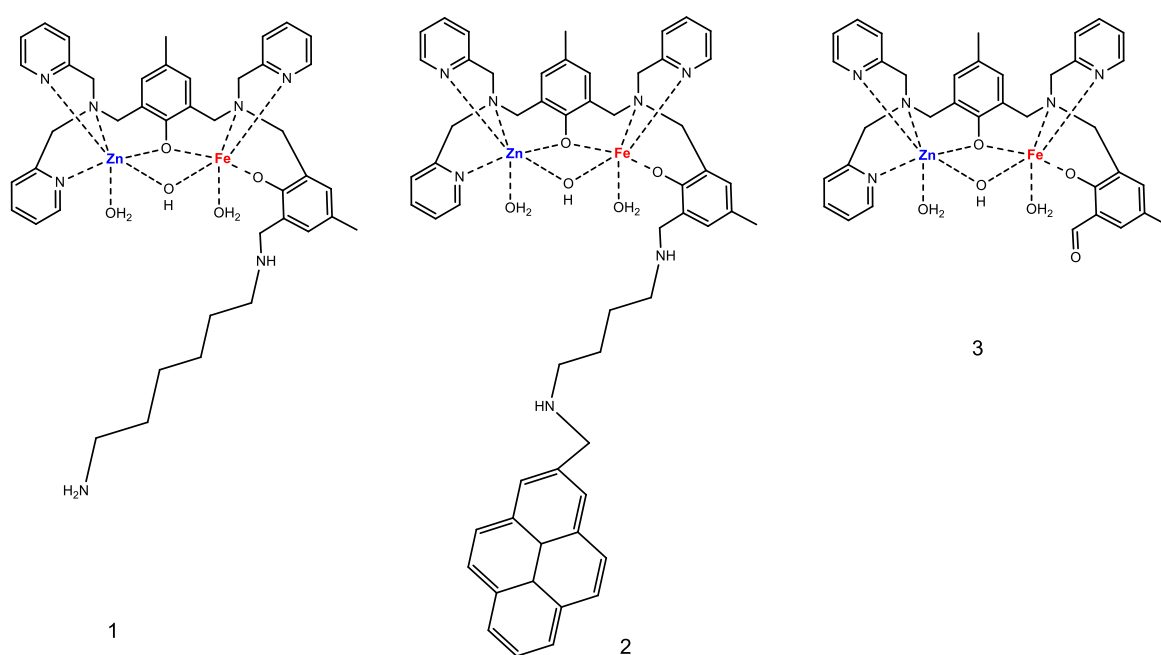


Figura 22. Estruturas de compostos da presentes na literatura: 1- $\text{FeZnH}_2\text{LHex}$ ⁹; 2- FeZnLP1 ²⁴; 3 - FeZnLald ²³.

Tabela 3. Valor do pKa cinético obtido para o CABF_FeZn, e para compostos de estrutura semelhante presentes na literatura.

Compostos	pKa cinético
CABF_FeZn	4,99 ± 0,12
FeZnH₂LHex⁹	5,15 ± 0,07
FeZnLP1²⁴	5,34
FeZnLald	4,90

Pelos valores apresentados nota-se que o efeito da segunda esfera de coordenação auxilia na formação da espécie ativa cineticamente. O valor obtido para o complexo contendo o ferroceno se mostrou próximo ao valor de seu complexo semelhante que contém apenas a cadeia da 1,6-diaminohexano lateral,⁹ indicando que há também a presença de interações envolvidas pela presença da amina da cadeia lateral protonada. Isso se torna evidente quando comparamos com o valor do complexo contendo uma unidade pireno ao invés do ferroceno²⁴ que apresentou um pKa ainda mais elevado, revelando que possíveis interações dessas unidades laterais hidrofóbicas são relevantes para a atividade catalítica do centro ativo.

Após a detecção do pH ótimo para a atividade de hidrólise, foram realizados os testes de efeito de concentração do substrato, também em triplicata, obtendo-se uma curva (Figura 23) pela aplicação do método das velocidades iniciais pelo modelo de Michaelis-Menten de maneira a se obter os parâmetros cinéticos para este sistema, mostrados na Tabela 4.

A constante de Michaelis-Menten (K_M) é indicativo da afinidade do substrato pelo catalisador, ou seja, quanto menor o seu valor, maior a sua afinidade, uma vez que o K_{ass} é o valor inverso do K_M . O valor encontrado para o CABF_FeZn mostra que o efeito da cadeia lateral contendo a amina e o ferroceno agindo como modelo para segunda esfera de coordenação contribui na melhora da afinidade do substrato pelo complexo em comparação com demais modelos que abordam apenas a primeira esfera de coordenação da enzima.^{19, 24} Essa melhora pode se dar devido a interações eletrostáticas, uma vez que os grupos amino protonados possuem uma carga positiva, conduzindo a uma aproximação do substrato 2,4-BDNPP mais facilitada, já que o mesmo é um ânion.¹⁸

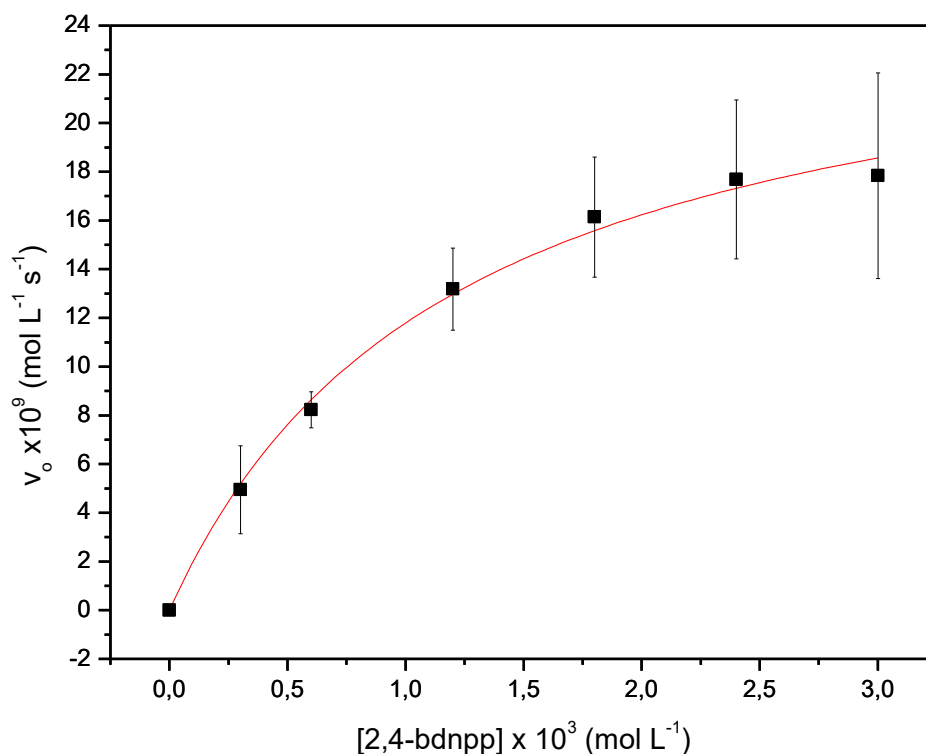


Figura 23. Dependência da velocidade de reação do 2,4-BDNPP com a concentração do substrato para o CABF_FeZn. Condições: CH₃CN/H₂O (50:50, %v/v); [Complexo] = 4 x 10⁻⁵ mol L⁻¹; [tampão] = 5 x 10⁻² mol L⁻¹; I = 5 x 10⁻² LiClO₄ mol L⁻¹.

Tabela 4. Valor dos parâmetros cinéticos obtidos para o CABF_FeZn, e para compostos de estrutura semelhante presentes na literatura.

Compostos	K _M (10 ⁻³ mol. L ⁻¹)	K _{ass} (L. mol ⁻¹)	k _{cat} (10 ⁻⁴ s ⁻¹)	k _{cat} / K _M (L. mol ⁻¹ . s ⁻¹)
CABF_FeZn	1,21 ± 0,146	826,44 ± 99,72	6,51 ± 0,322	0,54 ± 0,702
FeZnH₂LHex ⁹	2,22	450,45	2,02	0,09
FeZnLP1 ²⁴	0,66	1515,15	2,10	0,31
FeZnLald ²³	3,50	270,00	9,00	0,25

Peralta *et al*³² argumenta que, se a força do nucleófilo nos complexos é similar, espera-se então que apresentem uma atividade catalítica semelhante. Como se nota pelas estruturas, o centro ativo da molécula é o mesmo para todas elas.^{9, 24} Entretanto os valores de k_{cat} se apresentam bem diferentes, revelando que o efeito da segunda esfera de coordenação tem influência também na atividade catalítica, aumentando a velocidade da reação catalisada. No complexo CABF_FeZn isso fica

bem nítido pelo valor bem mais elevado da constante catalítica da reação, levando a crer que o ferroceno participa de forma intensa do incremento da catálise. Esse efeito pode ser decorrente de interações eletrostáticas das aminas protonadas da cadeia lateral, por fortes interações hidrofóbicas, ou ainda por interações de dipolo e/ou forças de van der Waals do ferroceno com o centro ativo.¹⁵

A eficiência catalítica também sofre bastante influência dos efeitos da segunda esfera de coordenação, como visto na Tabela 4. Assim como no complexo com o ferroceno, o complexo FeZnLP1²⁴ apresenta um valor mais alto de eficiência catalítica quando comparado com compostos semelhantes, porém apenas com a cadeia da diamina lateral.^{9,24} A presença destes grupos adicionais à amina estaria gerando uma região hidrofóbica no meio reacional, deixando o nucleófilo com uma maior liberdade para fazer o ataque ao átomo de fósforo do substrato modelo. Este tipo de comportamento também é notado em algumas enzimas hidrolíticas, que com a presença de aminoácidos adjacentes ligados no sítio ativo destas enzimas leva a um aumento significativo da atividade catalítica.³⁵

6 CONCLUSÕES

Os pró-ligantes foram sintetizados obtendo-se um rendimento satisfatório e com um grau de pureza adequado para a síntese final do ligante LABF. O ligante de interesse foi sintetizado e caracterizado por diversas técnicas que corroboraram a presença da unidade ferroceno em sua estrutura.

Com o ligante puro o complexo binuclear de Fe(III) e Zn(II) foi sintetizado, e mesmo sem a obtenção de cristais que possibilitassem a definição de sua estrutura por difração de raios X, outras técnicas foram utilizadas e confirmaram a estrutura proposta para o complexo, que condiz com demais compostos semelhantes já descritos na literatura.

O complexo foi utilizado para os testes catalíticos frente ao substrato modelo para hidrólise 2,4-BDNPP, e apresentou resultados promissores e condizentes com compostos desenvolvidos previamente dentro do grupo de pesquisa, mostrando que o centro heterobinuclear é um sítio ativo para hidrólise de ésteres de fosfato e que a presença da unidade ferroceno no ligante potencializa cataliticamente essa reação hidrolítica devido a interações referentes à segunda esfera de coordenação. Entretanto, outras caracterizações se fazem necessárias, como titulação potenciométrica, coulometria, entre outras, a fim de se obter maiores informações sobre o complexo.

A reatividade do complexo frente ao substrato modelo leva a um prospecto de testes frente a DNA para se avaliar o potencial do complexo como composto biomimético da enzima hidrolítica, buscando-se descobrir de que modo essa unidade ferroceno presente na molécula consegue potencializar a catálise. Além disso a geração do complexo que contenha a unidade ferroceno oxidada de forma estável, apresentando carga no organometálico, é pretendida de ser obtida, a fim de aumentar a possível interação com o DNA em testes futuros.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1: SHRIVER, D.F.; ATKINS, P.W. *et al.* **Química Inorgânica**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008. 848 p.
- 2: COWAN, J.A. **Inorganic biochemistry: an introduction**. New York: Vch, 1993. 349 p.
- 3: LIPPARD, S. J.; BERG, J. M. **Principles of Bioinorganic Chemistry**. Mill Valey: University Science Books, 1994. 411p.
- 4: ALEXANDER, S.P.H.; MATHIE, A.; PETERS, J.A. (2011). **Guide to Receptors and Channels (GRAC)**, 5th ed. Br. J. Pharmacol. 164 (1): 1–324.
- 5: WILCOX, D. E. (1996). **Binuclear Metallohydrolases**. Chemical Reviews, 96(7): 2435-2458.
- 6: SCHENK, G.; L. R. GAHAN, *et al.* (2005). **Phosphate forms an unusual tripodal complex with the Fe–Mn center of sweet potato purple acid phosphatase**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(2): 273-278.
- 7: MITIĆ, N.; SMITH, S. J. *et al.* (2006). **The Catalytic Mechanisms of Binuclear Metallohydrolases**. Chemical Reviews, 106(8): 3338-3363.
- 8: STRÄTER, N.; LIPSCOMB, W. N.; KLABUNDE, T.; KREBS, B. (1996). **Two-Metal Ion Catalysis in Enzymatic Acyl- and Phosphoryl-Transfer Reactions**. Angewandte Chemie International Edition in English, 35(18): 2024–2055.
- 9: HEYING, R.S. (2014). **Síntese, caracterização e atividade diesterase de novos modelos biomiméticos com efeitos de segunda esfera de coordenação para fosfatases ácidas púrpuras**. Dissertação (Mestrado em Química), Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC. 111 p.
- 10: KLABUNDE, T.; STRÄTER, N.; FRÖHLICH, R.; WITZEL, H. KREBS, B. (1996). **Mechanism of Fe(III)-Zn(II) Purple Acid Phosphatase Based on Crystal Structure**. Journal of Molecular Biology, v. 259, p. 737-748.

- 11: PEREIRA, C.M.P.; VENZKE, D.; TROSSINI, G.H.G. (2013). **Síntese de heterociclos bioativos derivados do ferroceno**. Quím. Nova, 36, (1): 143-152.
- 12: CORRY, A. J.; MOONEY, A.; O'SULLIVAN, D.; KENNY, P. T. M. (2009). **Synthesis, characterization and in vitro anti-cancer activity of N-(ferrocenyl)benzoyl tri- and tetrapeptide esters**. Inorg. Chim. Acta. 362: 2957–2961.
- 13: FOUDA, M. F. R.; ABD-ELZAHER, M. M.; ABDELSAMAIA, R. A.; LABIB, A. A. (2007) **On the medicinal chemistry of ferrocene**. Appl. Organometal. Chem. 21: 613–625.
- 14: BIOT, C.; DESSOLIN, J.; RICARD, I.; DIVE, D. (2004). **Easily synthesized antimalarial ferrocenetriazacyclononane quinoline conjugates**. J. Organometal. Chem. 689 (25): 4678-4682.
- 15: LINDSTRÖM, B.; PETTERSSON, L. J. A. (2003). **Brief History of Catalysis**. CATTECH, v. 7, p. 130–138.
- 16: BUNTON, C. A.; FARBER, S. J.; (1969). **The hydrolysis of bis(2,4-dinitrophenyl)phosphate**. The Journal of Organic Chemistry. 34 (34): 767-772.
- 17: GEARY, W. J. (1971). **The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds**. Coordination Chemistry Reviews 7(1): 81-122.
- 18: SMITH, S. J.; PERALTA, R. A.; JOVITO, R.; *et al* (2012). **Spectroscopic and Catalytic Characterization of a Functional Fe^{III}/Fe^{II} Biomimetic for the Active Site of Uteroferrin and Protein Cleavage**. Inorg. Chem., 51 (4), pp 2065–2078.
- 19: JOVITO, R. (2010). **Síntese, Caracterização e avaliação da promiscuidade catalítica de complexos binucleares bioinspirados**. Tese de Doutorado em Química. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina. 109 p.
- 20: NEVES, A.; BRITO, M. A.; VENCATO, I.; *et al*. (1996) **Fe^{III}Fe^{III} and Fe^{II}Fe^{III} complexes as synthetic analogues for the oxidized and reduced forms of purple acid phosphatases**. Inorganic Chemistry, v. 35, p. 2360.

- 21: KARSTEN, P.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A.; DRAGO, V. and LANZMASTER, M. (2002). **Synthesis, Structure, Properties, and Phosphatase Like Activity of the First Heterodinuclear Fe^{III}Mn^{II} Complex with the Unsymmetric ligand H₂BPBPMP as a model for the PAP in Sweet Potato.** *Inorganic Chemistry*, v. 41, p. 4624.
- 22: GREATTI, A.; SCARPELLINI, M.; PERALTA, R.A.; *et al.*(2008) **Synthesis, Structure, and Physicochemical Properties of Dinuclear Ni^{II} Complexes as Highly Efficient Functional Models of Phosphohydrolases.** *Inorganic Chemistry*, v. 47, p. 1107.
- 23: PIOVEZAN, C. *et al.*(2010).**Heterodinuclear Fe^{III}Zn^{II} - Bioinspired Complex Supported on 3-Aminopropyl Silica. Efficient Hydrolysis of PhosphateDiester Bonds.** *Inorganic Chemistry*, v. 49, n. 6, p. 2580–2582.
- 24: CAMARGO, T. P. (2013) **Desenvolvimento de complexos heterobinucleares de Fe^{III}Zn^{II} a partir de ligantes contendo o grupo pireno para estudo de interação com ésteres de fosfato e ácidos nucleicos.** Tese de Doutorado em Química. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina. 117 p.
- 25: TROJÁNEK, A.; LANGMAIER, J.; *et al.* (2011) **Fine tuning of the catalytic effect of a metal-free porphyrin on the homogeneous oxygen reduction.** Supplementary Material (ESI) for Chemical Communications. The Royal Society of Chemistry.
- 26: MCMURRY, John. **Organic chemistry.** 7th ed. Australia: Brooks/Cole, 2008. 1v. p. 172-243.
- 27: SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRILL, T. C. (1994).**Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos.** Editora LTC, Traduzido por ALENCASTRO, R. B., WIRCKER, L., GIL, R. A. S., 5ª ed. 387 p.
- 28: NAKAMOTO, K. (1977).**Infrared and Raman Spectra of Inorganic and coordination compounds.** Wiley - Interscience. New York, 3rd ed. p.317.
- 29: SØRENSEN, T. J.; NIELSEN, M. F. (2011) **Synthesis, UV/vis spectra and electrochemical characterisation of arylthio and styryl substituted ferrocenes.** *Cent. Eur. J. Chem.* 9 (4).610-618.

- 30: GABER, B. P., V. MISKOWSKI, *et al.* (1974). **Resonance Raman scattering from iron(III)- and copper(II)-transferrin and an iron(III) model compound. Spectroscopic interpretation of the transferrin binding site.** Journal of the American Chemical Society v. 96, p. 6868-6873, 1974.
- 31: GAGNE, R. R., C. A. KOVAL, *et al.* (1980). **Ferrocene as an internal standard for electrochemical measurements.** Inorganic Chemistry 19(9): 2854-2855.
- 32: PERALTA, R. A., A. J. BORTOLUZZI, *et al.* (2010). **Electronic Structure and Spectro Structural Correlations of FeIII ZnII Biomimetics for Purple Acid Phosphatases: Relevance to DNA Cleavage and Cytotoxic Activity.** Inorganic Chemistry 49(24): 11421-11438.
- 33: HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa.** 7^a ed. Rio De Janeiro: LTC, 2011. 868 p. 34: NEVES, A., M. LANZMASTER, *et al.* (2007). **An Unprecedented FeIII(μ -OH)ZnII Complex that Mimics the Structural and Functional Properties of Purple Acid Phosphatases.** Journal of the American Chemical Society 129(24): 7486-7487.
- 35: COOK, P. F. & W. W. CLELAND (2012). **Enzyme Kinetics and Mechanis,** Garland Science.